

AUS DER KLINIK FÜR NEUROCHIRURGIE  
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT



DER HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

DISSERTATION

KERNSPINTOMOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN NACH  
"CONTROLLED CORTICAL IMPACT INJURY"

ZUR ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES  
DOCTOR MEDICINAE (DR. MED.)

VORGELEGT DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT CHARITÉ  
DER HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

VON

DIPL.–BIOCHEM. RALF STROOP  
AUS RIETBERG

Meinen Eltern

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter:     1. Prof. Dr. A. W. Unterberg  
                  2. Priv.-Doz. Dr. M. J. A. Puchner  
                  3. Prof. Dr. Ch. Groden

Datum der Promotion: 22. September 2003

## Abstract

*Objective:* The controlled cortical impact injury (CCII) device, as described by Dixon 1991, was used to investigate the brain tissue damage in an animal model of severe traumatic brain injury. Magnetic resonance imaging (MRI) techniques including diffusion weighted imaging (DWI) have been applied to analyse the time course and the characteristics of edema formation and to detect blood-brain-barrier disruption. Furthermore MRI has been used to investigate a neuroprotective effect of the NO-synthase pathway modulator lubeluzole, which has proved markedly beneficial in a model of cerebral ischemia in rats.

*Material and Methods:* a left parieto-temporal cortical contusion was inflicted upon 46 Sprague Dawley rats. Animals have been examined up to 7 days following trauma by MRI. 36 animals have been administered lubeluzole resp. placebo.

*Results:* The most pronounced edema formation has been shown in T2-weighted imaging at 24 - 48 hours post trauma. DWI was able to distinguish between a contusion core and a contusion rim. The contusion core was marked by a decrease in the apparent diffusion coefficient (ADC) up to 48 hours post trauma, indicating cytotoxic edema, whereas the contusion rim has been characterised by vasogenic edema, as indicated by ADC-increase over the entire investigation period. In T1-weighted imaging contrast agent extravasation indicated a sustained blood brain barrier disruption up to 7 days after trauma. Compared to placebo administered rats in lubeluzole-treated animals no significant differences in ADC-changes, edema-extension or physiological parameters as blood pressure, intracranial pressure or brain swelling could be demonstrated.

*Conclusion:* CCII induced traumatic brain injury is characterised by a cytotoxic edema up to 48 hours encircled by a vasogenic contusion rim accompanied by a sustained blood brain barrier disruption. In the model of CCII lubeluzole did not reveal a neuroprotective effect in the applied dosage.

## Keywords:

traumatic brain edema, magnet resonance imaging, diffusion weighted imaging, lubeluzole



## **Zusammenfassung**

*Fragestellung:* Das von Dixon 1991 beschriebene tierexperimentelle Modell der 'controlled cortical impact injury' (CCII) wurde zur Untersuchung pathophysiologischer und pathomorphologischer Veränderungen nach traumatischer Hirnkontusion angewandt. Magnetresonanztomographische Techniken (MRT) einschließlich der diffusionswichtenden Bildgebung (DWI) wurden genutzt, um den Zeitverlauf der Hirnödementwicklung zu erfassen, eine Differenzierung unterschiedlicher Ödemformen zu ermöglichen und einen Blut-Hirnschrankenschaden zu detektieren. Desweiteren wurde die MRT genutzt, um den neuroprotektiven Effekt des NO-Synthase-Pathway-Modulators Lubeluzol, der bereits im Modell der zerebralen Ischämie nachgewiesen werden konnte, zu untersuchen.

*Material und Methoden:* An 46 Sprague Dawley Ratten wurde eine links parieto-temporale Kontusion appliziert. Die Tiere wurden bis zu 7 Tage nach Trauma magnetresonanztomographisch untersucht. 36 Tiere erhielten Lubeluzol resp. Placebo.

*Ergebnisse:* Die T2-gewichtete Bildgebung zeigte eine maximale Ödemausbreitung 24 - 48 Stunden nach Trauma. Es ließ sich mithilfe der DWI ein Kontusionskern von einem Kontusionsrand differenzieren. Der Kontusionskern zeichnete sich bis 48 Stunden nach Trauma durch einen Abfall des apparenten Diffusionskoeffizienten (ADC) aus, einem zytotoxischem Ödem entsprechend, der Kontusionsrand wies während des gesamten Untersuchungszeitraums einen ADC-Anstieg auf, als Ausdruck eines vasogenen Ödems. Die T1-gewichtete Bildgebung konnte nach Kontrastmittel (KM)-Applikation durch die KM-Extravasation eine über 7 Tage anhaltende Störung der Blut-Hirnschranke detektieren. In der Lubeluzol-Studie ließ sich anhand der ADC-Veränderungen, des Ödemausmasses oder physiologischer Parameter wie Blutdruck, intrakranieller Druck oder Hirnschwellung kein signifikanter Unterschied zwischen den Tieren der Substanz- bzw. Placebo-Gruppe aufzeigen.

*Schlußfolgerung:* Die in dem Modell der CCII induzierte traumatische Hirnkontusion zeichnet sich bis 48 Stunden nach Trauma durch einen zytotoxischen Kontusionskern und einen diesen umgebenden vasogenen Kontusionrand aus. Desweiteren konnte ein anhaltender Blut-Hirnschrankendefekt nachgewiesen werden. Ein neuroprotektiver Effekt des Lubeluzols konnte in diesem Traumamodell in der hier applizierten Dosierung nicht nachgewiesen werden.

### **Schlagwörter:**

traumatisches Hirnödem, Magnetresonanztomographie, diffusionswichtende Bildgebung, Lubeluzol

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Einleitung . . . . .	1
1.2	Aufgabenstellung . . . . .	4
<b>2</b>	<b>Materialien, Methoden und Konzepte</b>	<b>5</b>
2.1	Versuchstiere . . . . .	5
2.2	Narkose . . . . .	5
2.3	Kontrollierte kortikale Kontusion . . . . .	6
2.3.1	Operative Trepanation . . . . .	6
2.3.2	CCII-Apparatur . . . . .	7
2.4	Okklusion der Arteria cerebri media . . . . .	10
2.5	Tiertransport . . . . .	10
2.6	Magnetresonanztomographie . . . . .	11
2.6.1	Apparative Ausstattung . . . . .	11
2.6.2	Hardware-Ausstattung . . . . .	12
2.6.3	Software . . . . .	13
2.6.4	Spulenübersicht . . . . .	15
2.6.5	Kernspintomographische Meßsequenzen . . . . .	16
2.6.6	Kontrastmittel . . . . .	25
2.6.7	Kernspintomographische Bestimmung der Kontusionsvolumina . . . . .	27
2.6.8	Histologische Bestimmung der Kontusionsvolumina . . . . .	27
2.7	MCA-Okklusionsuntersuchung . . . . .	27
2.8	Lubeluzol-Studie . . . . .	28
2.9	7-Tage-Verlaufsuntersuchungen . . . . .	29
2.10	Statistik . . . . .	30
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>31</b>
3.1	Biomechanik des CCII-Modells . . . . .	31
3.2	Spulenauswahl . . . . .	34
3.3	Sequenzparametrisierung . . . . .	38
3.3.1	Diffusionswichtung . . . . .	38
3.3.2	ADC-Änderung nach MCAO . . . . .	42
3.4	Anatomischer Überblick . . . . .	43
3.4.1	Koronare Darstellung . . . . .	43
3.4.2	Sagittale Darstellung . . . . .	48
3.4.3	Transversale Darstellung . . . . .	54

3.5	Lubeluzol-Studie . . . . .	57
3.6	7-Tage-Verlaufsuntersuchungen . . . . .	67
3.7	Histogramm-Darstellung und Gewebeclustering . . . . .	71
3.7.1	Zeitverlauf der Kontusion anhand der Cluster: T2-Wichtung/ADC . . . . .	73
3.7.2	Histogramm aus T2-/T1-Wichtung . . . . .	85
3.7.3	T1-gewichtete Bildgebung . . . . .	88
3.7.4	DWI-Bildgebung . . . . .	91
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>94</b>
4.1	Zerebrales Trauma . . . . .	94
4.1.1	Kontusionsmodell . . . . .	94
4.1.2	Narkose . . . . .	97
4.2	Magnetresonanztomographie . . . . .	98
4.2.1	Spulenauswahl . . . . .	101
4.2.2	T2-gewichtete Bildgebung . . . . .	103
4.2.3	T1- und post-Kontrast-T1-Wichtung . . . . .	104
4.2.4	Diffusionsgewichtete Bildgebung . . . . .	111
4.2.5	ADC-Berechnung . . . . .	115
4.3	7-Tage-Verlaufsuntersuchungen . . . . .	119
4.4	Lubeluzol . . . . .	122
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>128</b>
	<b>Literatur</b>	<b>130</b>
<b>A</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>141</b>
A.1	Abkürzungen . . . . .	141
A.2	Formelzeichen . . . . .	144
A.3	Einheiten . . . . .	147
A.4	Physikalische Konstanten . . . . .	148
<b>B</b>	<b>Curriculum Vitae</b>	<b>149</b>
<b>C</b>	<b>Publikationen</b>	<b>152</b>
<b>D</b>	<b>Danksagung</b>	<b>154</b>
<b>E</b>	<b>Erklärung an Eides Statt</b>	<b>156</b>

# Abbildungsverzeichnis

2.1	Trepanationsareal . . . . .	7
2.2	CCII-Apparatur . . . . .	8
2.3	Schema des 'cortical impact' Modells . . . . .	8
2.4	Schematische Darstellung des linearen variablen Differentialtransformers . . . . .	9
2.5	LabView-Routine zur Messung der Schlagakzeleration . . . . .	10
2.6	<i>Arteria cerebri media</i> -Okklusion . . . . .	11
2.7	2.35 T-Horizontalmagnet (Bruker) . . . . .	12
2.8	Schema der MRT-Anlage . . . . .	13
2.9	Aspect 3000 24 bit-Bilddatenformat . . . . .	14
2.10	Spulentypen . . . . .	16
2.11	HF-Analysator-System zur Spulengütenbestimmung . . . . .	16
2.12	T2-Sequenzschema . . . . .	19
2.13	T1-Sequenzschema . . . . .	21
2.14	DWI-Sequenzschema . . . . .	24
2.15	MRT-kompatibler Stereotaxierahmen . . . . .	25
2.16	Molekülstruktur des Lubeluzol . . . . .	28
2.17	Zeitlicher Verlauf der Lubeluzol-Untersuchungen . . . . .	30
3.1	Weg-Zeit-Diagramm des Kontusionsablaufes . . . . .	31
3.2	Kontusionsverlaufsmittlung . . . . .	32
3.3	Geschwindigkeits- und Induktionssignal-Verlauf der Kontusion . . . . .	33
3.4	Bestimmung von $v_{max}$ über Differentialquotienten . . . . .	33
3.5	Oberflächenspule (Bruker) . . . . .	35
3.6	Oberflächenspule (TFH) . . . . .	35
3.7	Große Bodycoil (Bruker) . . . . .	36
3.8	Kleine Bodycoil (UKBF) . . . . .	36
3.9	Spulenvergleich hinsichtlich Ausleuchtungstiefe . . . . .	37
3.10	Spin-Echo Diffusions-Sequenzschema . . . . .	38
3.11	b-Faktoren-Abhängigkeit . . . . .	39
3.12	Readgradient-Einfluß . . . . .	40
3.13	Diffusionskoeffizienten-Vergleich mit tabellierten Daten . . . . .	41
3.14	ADC-Temperaturabhängigkeit . . . . .	42
3.15	Schematische Darstellung des Ventrikelsystems . . . . .	44
3.16	Koronare Darstellung (6.2 / 5.6) . . . . .	44
3.17	Koronare Darstellung (4.6 / 3.8) . . . . .	45
3.18	Koronare Darstellung (3.0 / 1.8) . . . . .	45
3.19	Koronare Darstellung (0.8 / 0.0) . . . . .	46

3.20	Koronare Darstellung (-1.0 / -2.2)	46
3.21	Koronare Darstellung (-3.2 / -4.8)	47
3.22	Koronare Darstellung (-6.0 / -7.0)	47
3.23	Mediane Schnittführung	48
3.24	Parasagittale Schnittführung (1.3 mm)	49
3.25	Parasagittale Schnittführung (1.9 mm)	50
3.26	Parasagittale Schnittführung (2.9 mm)	51
3.27	Parasagittale Schnittführung (4.3 mm)	52
3.28	Parasagittale Schnittführung (5.1 mm)	53
3.29	Transversale Schnittführung (0.0 mm)	54
3.30	Transversale Schnittführung (1.2 mm)	55
3.31	Transversale Schnittführung (2.4 mm)	55
3.32	Transversale Schnittführung (3.6 mm)	56
3.33	Transversale Schnittführung (4.8 mm)	56
3.34	Ödementwicklung unter Lubeluzol-Applikation	57
3.35	T2-gewichtete Bilder im Zeitverlauf	58
3.36	Histologische Kontusionsvolumina nach Lubeluzol-Applikation	58
3.37	Kontusionsareal in HE-Färbung (Koronarschnitt)	59
3.38	Regressionsanalyse: Histologie vs. T2-Wichtung	60
3.39	T1-gewichtete Bilder im Zeitverlauf	61
3.40	Zeitverlauf nach KM-Gabe unter Lubeluzol-Applikation	61
3.41	T1-/post-KM-T1-Wichtung: Verlauf	62
3.42	ADC-Verlauf unter Lubeluzol-Applikation	63
3.43	Diffusionswichtungen und berechnete ADC-Map	65
3.44	Auswirkung der Lubeluzol-Applikation auf MABP, ICP und CPP	66
3.45	Posttraumatische Hemisphärenschwellung	66
3.46	T2-gewichtete Bilddaten im 7-Tage-Zeitverlauf	67
3.47	Ödemvolumina im 7-Tage-Zeitverlauf	68
3.48	T1-gewichtete Bilddaten im 7-Tage-Zeitverlauf	69
3.49	post-KM-T1-gewichtete Bilddaten im 7-Tage-Zeitverlauf	70
3.50	Kontrastmittelextravasation im 7-Tage-Zeitverlauf	70
3.51	Prinzip der Histogramm-Bildung	72
3.52	Gesunde Tiere, Cluster: T2-Wichtung/ADC	73
3.53	90 min post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC	74
3.54	6 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC	75
3.55	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC	76
3.56	48 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC	77
3.57	7 Tage post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC	78
3.58	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC (Kontusionsrand)	79
3.59	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC (Gesunde Substanz)	80
3.60	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC (Ventrikelsystem)	81
3.61	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/ADC (Basalganglien)	82
3.62	Intensitätsverlauf (7 Tage) der T2-Wichtung	83
3.63	ADC-Verlauf (7 Tage)	84
3.64	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/T1-Wichtung (Kontusionskernbereich)	85

3.65	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/T1-Wichtung (Kontusionsrand) . . . . .	86
3.66	24 Stunden post Trauma, Cluster: T2-Wichtung/T1-Wichtung (Hämorrhagischer Randsaum) . . . . .	87
3.67	24 Stunden post Trauma, Cluster: T1-Wichtung/post-KM-T1-Wichtung (Kontusion) . . . . .	88
3.68	24 Stunden post Trauma, Cluster: T1-Wichtung/post-KM-T1-Wichtung (Hämorrhagischer Randsaum) . . . . .	89
3.69	Histogramm der Entwicklung der T1-Wichtung . . . . .	90
3.70	Histogramm des Diffusionszuwachses . . . . .	92
3.71	Diffusionsgewichtete Bilddaten und korrespondierende ADC-Maps . . . . .	93
4.1	Pathophysiologie verschiedener Traumamodelle . . . . .	96
4.2	Gradientenfelder . . . . .	101
4.3	Halbwertsbreite . . . . .	102
4.4	Receiver-Signalabfall in Orthogonalrichtung . . . . .	103
4.5	Abtastung der Rohdatenmatrix in der Multi-Echo-Sequenz-Technik RARE . . . . .	104
4.6	Impuls- und Gradientenschema der RARE-Sequenz . . . . .	105
4.7	T1-Kontrast in Abhängigkeit von TR (Ratte) . . . . .	105
4.8	Maximaler T1-Kontrast in Abhängigkeit von TR (Ratte) . . . . .	106
4.9	T1-Kontrast in Abhängigkeit von TR (Mensch) . . . . .	106
4.10	Molekülstruktur des Gadolinium-Dimegluminats . . . . .	107
4.11	Energetische Entartung des Eisenatoms . . . . .	108
4.12	Prinzip der stimulierten Echo-Methode . . . . .	112
4.13	Prinzip der Spin-Echo-Methode . . . . .	112
4.14	Magnetisierungsverlauf der STED-Sequenz . . . . .	113
4.15	Isodistante b-Faktoren-Verteilung . . . . .	116
4.16	Freie und restringierte Diffusion . . . . .	117
4.17	Mediatoren des Sekundärschadens . . . . .	123
4.18	Schema der NO-Synthase-Aktivierung . . . . .	124
4.19	Reaktionsschema der NO-Synthasen . . . . .	126

# Tabellenverzeichnis

2.1	Kontusionsparameter der CCII-Apparatur . . . . .	10
2.2	Parameter der T2-gewichteten RARE-Sequenz (TOMIKON-Software) . . .	17
2.3	Parameter der T2-gewichteten RARE-Sequenz (ParaVision-Software) . . .	18
2.4	Parameter der T1-gewichteten MSSE-Sequenz (TOMIKON-Software) . . .	20
2.5	Parameter der T1-gewichteten MSSE-Sequenz (ParaVision-Software) . . .	20
2.6	Parameter der STED-Sequenz (TOMIKON-Software) . . . . .	22
2.7	Parameter der SE-Diffusion-Sequenz (ParaVision-Software) . . . . .	23
2.8	Lubeluzol-Meßprotokoll . . . . .	28
2.9	Meßprotokoll der 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen . . . . .	29
3.1	Spulengüten im belasteten und unbelasteten Zustand . . . . .	34
3.2	Diffusionsgradienten der Kontrollmessungen . . . . .	39
3.3	Literaturwerte der untersuchten Diffusionskoeffizienten . . . . .	40
3.4	ADC-Änderungen nach Infarkt-Induktion . . . . .	43
3.5	ADC-Werte unter Lubeluzol-Gabe . . . . .	64
3.6	Blutgasanalyse 24 Stunden nach CCII . . . . .	64
4.1	Signalentwicklung von Blutungsarealen . . . . .	108
4.2	Abhängigkeit der Signalintensität von TR und NoA . . . . .	114

# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Einleitung

Das schwere Schädel-Hirn-Trauma ist in Europa und Nordamerika in der männlichen Bevölkerung unter 45 Jahren die häufigste Ursache für Tod oder schwere Behinderung (Frankowski *et al.*, 1985; McIntosh *et al.*, 1996). Bei 40 % der Patienten, die infolge eines Unfalls versterben, ist das Schädel-Hirn-Trauma (SHT) die führende Todesursache.

Nach den Daten der National Traumatic Coma Data Bank (Foulkes *et al.*, 1991) versterben in Nordamerika 37 % der Patienten mit einem schweren Schädel-Hirn-Trauma, 21 % weisen nach sechs Monaten ein schlechtes klinisch-neurologisches Ergebnis (outcome) auf (Chesnut *et al.*, 1993).

In Deutschland gibt es zwar keine exakten epidemiologischen Daten über die Häufigkeit, Art und Schwere von Schädel-Hirn-Verletzungen, nach Erhebungen des Bundesamtes für Statistik starben aber 1994 insgesamt etwa 10.000 Patienten an den Folgen eines Schädel-Hirn-Traumas. Das Schädel-Hirn-Trauma bildet somit eine Krankheitsentität von weitreichender persönlicher, familiärer, sozialer und nicht zuletzt sozioökonomischer Tragweite. Andererseits hat sich das 'outcome' von Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma in den letzten 20 Jahren deutlich verbessert. Hierzu haben Fortschritte in der Notfallmedizin, der bildgebenden Diagnostik, des Neuromonitorings, in der Intensivmedizin und den rehabilitativen Maßnahmen beigetragen (Gordon *et al.*, 1995). Desweiteren wird die Standardisierung des Managements in der Versorgung von Schädel-Hirn-traumatisierten Patienten angestrebt, um das 'outcome' weiter zu verbessern (Murray *et al.*, 1999; Bullock *et al.*, 1996).

In der *radiologischen Diagnostik* des SHT ist die zerebrale Computertomographie (CCT) weiterhin das Mittel der Wahl und hat sich auch gegenüber den neueren magnetresonanztomographischen (MRT) Techniken behaupten können. Dieses ist bedingt durch die schnelle Durchführbarkeit, die flächendeckende und permanente Verfügbarkeit, sowie die einfache Interpretation der CCT-Bilder.

Die Überwachung und Stabilisierung während einer MRT-Diagnostik des häufig somnolenten oder komatösen Schädel-Hirn-traumatisierten Patienten erfordert eine erhebliche apparative Ausstattung, die nur in wenigen Zentren verfügbar ist. Die Magnetresonanztomographie ist aber von zunehmenden Interesse für die Beantwortung pathophysiologischer Zusammenhänge des Schädel-Hirn-Traumas, da diese Methode gegenüber der zerebralen Computertomographie eine Reihe zusätzlicher Bildqualitäten ermöglicht. Diese ergeben sich - neben den routinemäßig durchgeführten T2- und T1-gewichteten Bildern - aus der



Perfusions- und Diffusionswichtung bzw. aus angiographischen, funktionellen oder spektroskopischen Techniken.

Das *Neuromonitoring*, dessen Ziel es ist, objektive Meßgrößen bereitzustellen, um somit die erweiterte Grundlage für eine gezielte Therapie zu bilden, ist unlängst durch die zerebrale Mikrodialyse ergänzt worden. Diese ermöglicht es, neben den bislang bekannten und z. T. schon routinemäßig erfaßten Größen des intrakraniellen Drucks (ICP), der Gewebesauerstoff- und -CO<sub>2</sub>-Sättigung ( $p_{ti}O_2$ ,  $p_{ti}CO_2$ ), der Temperatur und des pH-Werts, auch Aussagen über die biochemischen Veränderungen während der Therapie zu erfassen.

Das *therapeutische* Spektrum besteht derzeit aus konservativen Maßnahmen wie Analgosedierung, Osmotherapie, Hyperventilation und Barbituratnarkose und operativen Maßnahmen wie Hämatomausräumung und Dekompressionstrepanation. Erweiterungen dieses Spektrums werden von aktuellen und intensiven Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Neuroprotektion erwartet, mit dem Ziel den Sekundärschaden des Schädel-Hirn-Traumas zu reduzieren. Da der Sekundärschaden aus einer Folge von sich z. T. selbstverstärkenden Kaskaden aus Radikalbildung, der Freisetzung von Glutamat, Calcium etc. resultiert, werden diese Prozesse intensiv untersucht, um mögliche pharmakotherapeutische Ansatzpunkte aufzuzeigen. Unter der Annahme ähnlicher pathophysiologischer Grundlagen sind zahlreiche Substanzen hinsichtlich eines neuroprotektiven Effekts in experimentellen und klinischen Studien der Ischämie und des Traumas untersucht worden. Bisher konnte jedoch bei keiner der Substanzen eine klinische Effektivität nachgewiesen werden.

Die äußerst komplexen und vielfach noch unzureichend verstandenen pathophysiologischen Zusammenhänge des posttraumatischen Geschehens und die Evaluation möglicher neuroprotektiver Substanzen machen tierexperimentelle Untersuchungen zur Analyse pathophysiologischer Einzelkomponenten, wie der Kontusion, weiterhin unverzichtbar.

Ein Schwerpunkt pathomorphologischer Untersuchungen in tierexperimentellen Studien zur Untersuchung der traumatischen zerebralen Kontusion besteht in histologischen Techniken. Von zunehmendem Interesse sind aber auch kernspintomographische Studien (Kochanek *et al.*, 1995). Diese ermöglichen in longitudinalen Studien intraindividuell die posttraumatische Dynamik der Kontusion, der Ödemausdehnung und des Blut-Hirnschrankenschadens anhand T2- und nativer sowie postkontrast-T1-gewichteter Bildgebungen in nicht-invasiver Weise zu erfassen und zu quantifizieren.

Die diffusionsgewichtete Bildgebung (DWI) wurde als eine weitere Bildqualität insbesondere in den experimentellen und klinischen Untersuchungen des zerebralen Infarktes eingesetzt, um die frühen, zytotoxischen Gewebsläsionen zu detektieren (Baird & Warach, 1998). Bislang kam sie nur vereinzelt zur Erforschung zerebraler Kontusionen zum Einsatz (Hanstock *et al.*, 1994). Die diffusionsgewichtete Bildgebung ermöglicht Aussagen über die Pathophysiologie des posttraumatischen Ödems und ischämiebedingter, metabolischer Störungen. Denn neben der zeitlichen und räumlichen Dynamik, der das Hirnödem als wichtigste Manifestation des zerebralen Sekundärschadens unterliegt, ist die qualitative Differenzierung zwischen vasogenem und zytotoxischem Ödemkomponenten von Interesse. Diese können, ebenso wie die in diesem Zusammenhang pathogenetisch wichtige Blut-Hirnschranken-Schädigung, mit MRT-Untersuchungen sensitiv detektiert werden.

Ziel dieser Arbeit ist die Charakterisierung und Untersuchung grundlegender, pathophysiologischer Gewebeveränderungen anhand kernspintomographischer Techniken nach einer tierexperimentell induzierten, kontrollierten kortikalen Kontusion (CCII) bei der Ratte.

Auf der Basis der Beschreibung dieser Ödemdynamik bietet sich desweiteren die Untersuchung von Substanzen wie der NO-Synthase-Pathway-Modulator Lubeluzol an, die sich bereits in Studien zur zerebralen Ischämie als ödemlimitierend, bzw. neuroprotektiv erwiesen haben. Lubeluzol zeigte in den Untersuchungen von [Ryck \*et al.\*, 1996](#) eine Reduktion des zerebralen Infarktareals um 28 % , in T2- und diffusionsgewichteten MRT-Untersuchungen wurde unter Lubeluzol ein um 18 % verringerter Anstieg des Ödemvolumens nach zerebraler Ischämie gezeigt ([Ryck \*et al.\*, 2000](#)).

## 1.2 Aufgabenstellung

Zur Charakterisierung der kontrollierten kortikalen Kontusion (CCII) waren von besonderem Interesse die kernspintomographisch erfaßbaren Veränderungen hinsichtlich

- der Ausbreitung des traumatischen Hirnödems,
- einer Blut-Hirn-Schrankenstörung,
- der Differenzierung zwischen zytotoxischem und vasogenem Hirnödem und
- der Untersuchung ihrer zeitlichen Dynamik.

An Vorarbeiten notwendig waren hierfür

- die Adaptation des bereits standardisierten Modells der kontrollierten kortikalen Kontusion für kernspintomographische Untersuchungen,
- die Auswahl einer adäquaten MRT-Spule,
- die Parametrisierung der MRT-Meßsequenzen,
- die Anpassung der an dem MRT-System für tierexperimentelle Untersuchungen (Bruker Biospec) noch nicht etablierten diffusionsgewichteten Bildgebung,
- die Anpassung der Narkose, die Lagerung der Versuchstiere mit Hilfe eines MRT-kompatiblen Stereotaxierahmens sowie deren Temperierung,
- die Programmierung fehlender oder nicht hinreichend leistungsstarker Softwarealgorithmen zur Bildkonvertierung und -auswertung und
- die Darstellung einer orientierenden Übersicht über die Normalanatomie des Rattehirns zur Interpretation der pathomorphologischen Veränderungen bei den Traumatisierungen.

Die Evaluierung der diffusionswichtigen MRT-Messungen wurde zunächst an Lösungsmittel mit bekannten Diffusionskonstanten sowie deren Temperaturabhängigkeit bestimmt. Daran schlossen sich 3 tierexperimentelle Untersuchungsreihen an:

1. Zunächst soll nach Infarktinduktion mittels Okklusion der *Arteria cerebri media* die neu installierte, diffusionswichtige MRT-Technik anhand bekannter Literaturdaten validiert werden.
2. Die Dynamik der Kontusion und die Charakterisierung des Hirnödems sollen im zeitlichen Verlauf über 7 Tage untersucht werden.
3. In einer Pharmakostudie soll die potentiell neuroprotektive Substanz Lubeluzol im CCII-Modell untersucht werden.

# Kapitel 2

## Materialien, Methoden und Konzepte

Die Arbeiten zu den im folgenden beschriebenen Untersuchungen fanden an zwei unterschiedlichen Standorten statt.

Die operativen Eingriffe wurden im mikrochirurgischen Labor (Leitung: Prof. Dr. Unterberg) der Klinik für Neurochirurgie, Charité, Campus Virchow-Klinikum, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin durchgeführt.

Die kernspintomographischen Untersuchungen sowie die Software-Programmierung und Datenauswertung erfolgten in der kernspintomographischen Abteilung des Instituts für Radiologische Diagnostik (Leitung: Prof. Dr. Wolf) des Universitätsklinikums Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin (UKBF).

### 2.1 Versuchstiere

Die Versuche wurden im Rahmen der von der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales des Landes Berlin genehmigten Versuchsvorhaben: G 0160/96 und G 0150/98 durchgeführt.

Die Untersuchungen wurden an 55 männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Charles River Deutschland, Sulzfeld) mit einem Gewicht von 300 - 360 g erhoben. Die Tiere wurden zu 4 - 7 Tieren in Makrolon®-Käfigen mit entstaubtem Holzgranulat (Fa. Altromin, Lage / Lippe) bei Raumtemperatur und natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten. Die Tiere erhielten Wasser und Standardfutter (Altromin®, Lage / Lippe) ad libitum.

### 2.2 Narkose

Sämtliche operativen Eingriffe an den Tieren sowie die kernspintomographischen Messungen wurden an narkotisierten Tieren durchgeführt. Die Tiere der Vorversuche wurden zunächst zur Narkoseeinleitung mittels Diethylether-Inhalation bis zum Verlust der Kopfhaltkontrolle (nach etwa 45 - 60 s) narkotisiert. Für die operativen Eingriffe erfolgte die Narkoseführung über die intramuskuläre Injektion von Hostaket® (INN: Ketamin; Hoechst, Frankfurt), 80 mg / kg KG und Rompun®, (INN: Xylazin; Bayer, Leverkusen),

5 mg / kg KG (Erhardt *et al.*, 1992). Für die kernspintomographischen Messungen wurde die Narkoseführung in den Vorversuchen mittels wiederholbarer, subkutaner Injektion von 10 mg Tilest® (INN: Tiletamin, 5mg, Zolazepam, 5 mg; Parke Davis Co, Berlin) erreicht. Da im Verlauf der Vorversuche die Markrücknahme von Tilest® erfolgte, wurde die Narkose für den operativen und bildgebenden Teil einheitlich auf eine Isofluran/N<sub>2</sub>O-Inhalationsnarkose umgestellt.

Hierzu kam an beiden Arbeitsplätzen ein Isofluran-Verdampfer mit Rotameterblock (Fa. Dräger, Deutschland) zum Einsatz<sup>1</sup>. Zur Narkoseeinleitung wurden die Tiere für drei Minuten in einer Kammer einem kontinuierlich strömenden 5 %igem Isofluran, O<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>O-Gemisch (2:1), Fluß 1.5 l/min, ausgesetzt. Die Narkoseführung der weiterhin spontanatmenden Tiere erfolgte über eine konzentrische, doppellumige Maske mit zu- und ableitendem Gasweg mittels eines 1.75 - 2 % Isofluran, O<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>O-Gemisches (2:1), Fluß 0.75 l/min. Während der Narkose-Zeit wurden die Augen mittels Panthenol-Augensalbe (INN: Dexpanthenol; Jenapharm, Jena) vor der Austrocknung geschützt.

## 2.3 Kontrollierte kortikale Kontusion

### 2.3.1 Operative Trepanation

Die Tiere wurden auf einer Wärmematte gelagert, mit der die Körpertemperatur, gemessen über ein rektal plaziertes Thermometer, auf 36.5 - 37.5 °C gehalten wurde. Der Kopf der unter Maskennarkose spontanatmenden Tiere wurde in einer stereotaktischen Halterung (Stoelting, Wood Dale, Illinois) fixiert, der Bereich des operativen Zugangs rasiert. Nach etwa 3 cm langer, sagittaler Inszision der Kopfhaut wurde die Haut über dem linksseitigen *Musculus temporalis* in Richtung Ansatz bis zum *Arcus zygomaticus* hin mobilisiert. Der Muskel wurde in diesem Bereich mit einer bipolaren Pinzette reseziert und der Trepanationsbereich dargestellt.

Unter operationsmikroskopischer Sicht (Zeiss, Wetzlar) wurde mit einer Präzisionskleinbohrmaschine (20000 U/min) mit Diamantstiftkugel, 1 mm ø (Fa. Proxxon), möglichst erschütterungsfrei ein etwa hexagonaler Knochendeckel herausgefräst, der durch die anatomischen Strukturen aus Lambda-, Sagittal- und Koronarnaht und nach lateral durch den *Arcus zygomaticus* begrenzt wurde (s. Abb. 2.1). Der Fräskopf wurde dabei durch eine ständig strömende Spüllösung gekühlt. Hierbei mußte auf einen sauberen, glattrandigen Trepanationsrand, die Vermeidung einer traumatischen Subarachnoidal- und Subduralblutung sowie insbesondere auf eine intakte Dura mater geachtet werden. Die freiliegende Dura mater wurde jetzt mit einem feuchten Tupfer vor Antrocknung bis zur unmittelbar anschließenden Kontusionierung des Kortexareals in der CCII-Apparatur geschützt, die Narkose wurde weiterhin aufrechterhalten.

---

<sup>1</sup>Für den Einsatz am UKBF wurde eine Umrüstung der entsprechenden Konnektoren für den Anschluß an die N<sub>2</sub>O- und O<sub>2</sub>-Versorgung auf das MEDAP-C System notwendig. Zur Narkosegasabsaugung wurde eine Gasstrahlpumpe eines druckluftbetriebenen Absaugsystems umkonstruiert, indem anstelle des Abluftfilters ein Abluftschlauch angesetzt wurde, um die Gase in die Umluftlüftung abzuführen.

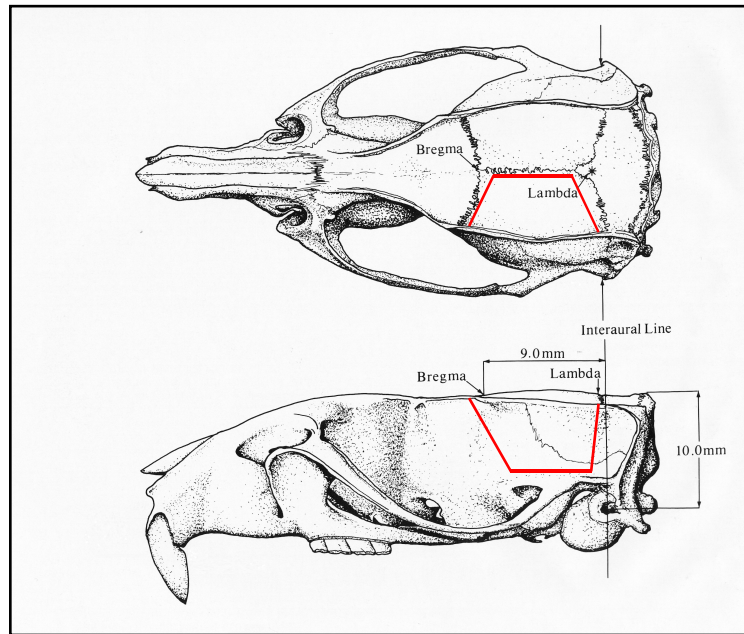


Abbildung 2.1: Darstellung des Trepanationsbereichs, entlang der Lambda-, Sagittal- und Koronarnaht des Rattenschädels. Modifiziert, aus Pellegrino *et al.*, 1979.

### 2.3.2 CCII-Apparatur

#### Aufbau der CCII-Apparatur

Zur Erzeugung einer experimentellen, traumatischen Kortex-Verletzung wurde die 'controlled cortical impact injury'-Apparatur (CCII) (Dixon *et al.*, 1991) eingesetzt. Diese wurde von dem Biomedical Science Department des General Motors Research Laboratory konzipiert und vom Medical Bioengineering Department des College of Virginia weiterentwickelt (s. Abbildungen 2.2 und 2.3).

Der Kontusionsstoß wird hierbei durch einen Bolzen ausgelöst, der durch einen doppelwirkenden pneumatischen Rundzylinder mit einem Kolbendurchmesser von 19.75 mm beschleunigt wird. Dieser Zylinder ist mit einer geringen Neigung gegen die Vertikale in einem stabilen Metallrahmen montiert. Die Hublänge der Kolbenstange beträgt 5 cm. Die akzelerierende Schubkraft wird über einen hyperbaren  $N_2$ -Druckluftanschluß aufgebaut und von einem Präzisions-Druckregler justiert. Über ein zweites, ebenfalls  $N_2$ -Druckluft getriebenes Modul mit eigenem Druckregler erfolgt die Rückholbewegung des doppelwirkenden Zylinderkolbens. Der Kontusionsstoß ist über einen arretierbaren Sicherheitsschalter auslösbar. Die Kontaktzeit, also die Zeit bis zum Einsetzen der Rückholbewegung, läßt sich über einen variablen Zeitverzögerungsschalter einstellen.

Auf dem Tisch des Metallrahmens ist eine stereotaktische Halterung montiert, die es durch Höhen-, Seiten- und Neigungsverstellung erlaubt, das in dieser Halterung fixierte Tier präzise gegenüber dem Kontusionsbolzen auszurichten. Für die Einstellung des Kontusionsablaufs wird der im Durchmesser 7 mm starke, leicht konvexe Bolzen zunächst in Kontakt mit der Dura gebracht, was durch ein tiefenverstellbares Schraubgewinde ermöglicht wird. Hierbei wird der Stereotaxieschlitten derart positioniert, daß die Schlagrichtung in radiärer Richtung zur konvexen Kortexoberfläche steht. Die Impressionstiefe kann dann

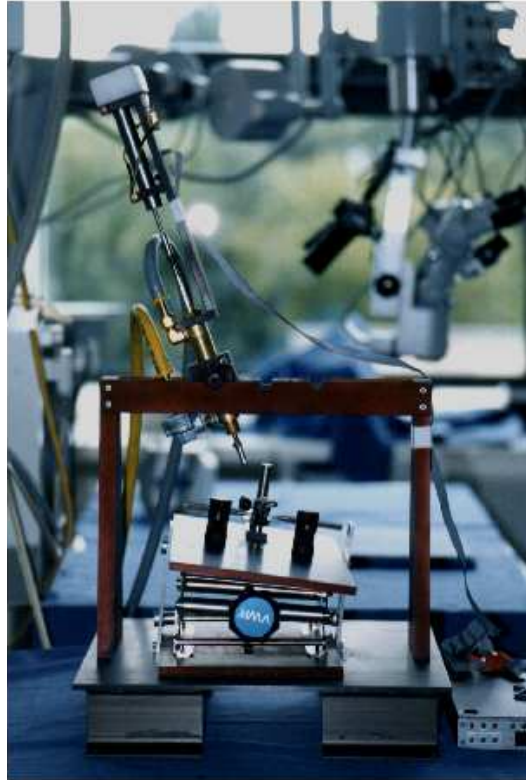


Abbildung 2.2: CCII-Apparatur zur Erzeugung einer experimentellen traumatischen Kortex-Verletzung an Versuchstieren.

durch Verschrauben der Bolzenspitze eingestellt werden, wobei die Ganghöhe des Gewin-  
des 1 mm/Umdrehung entspricht. Die Bolzenspitze wird zur Sicherung der Impressions-  
tiefe durch eine Mutter gekontert.

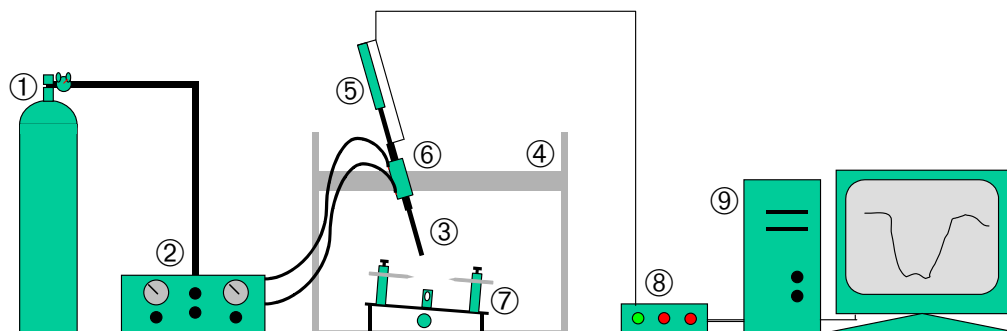


Abbildung 2.3: CCII-Apparatur mit  $N_2$ -Gasflasche (1), Nieder- und Hochdrucksteuerung (2), Schlagbolzen (3), Halterungsrahmen (4), dem linearen variablen Differentialtransformer (5), Druckventil (6), Stereotaxieschlitten (7), Frequenzgenerator und Phasenshifter (8), PC mit NI-DAQ-Karte und LabView-Programm-Routine (9), nach Dixon *et al.*, 1991.

## Biomechanische Kontrolle

Die hohe Reproduzierbarkeit der kortikalen Kontusion ist eine grundlegende Voraussetzung für alle weitergehenden, interindividuellen Datenauswertungen. Das CCII-Modell ermöglicht über ein entsprechendes Detektionssystem die Beschleunigung des Kontusionsbolzens zu erfassen. Dieses geschieht in einem linearen variablen Differentialtransformer (LVDT) über eine Induktionsänderung, die durch den akzelerierten metallischen Bolzen in zwei hintereinander montierten und konzentrisch um den Bolzen herum angeordneten Spulen hervorgerufen wird. Die Charakteristik des LVDT zeigt Abbildung 2.4.

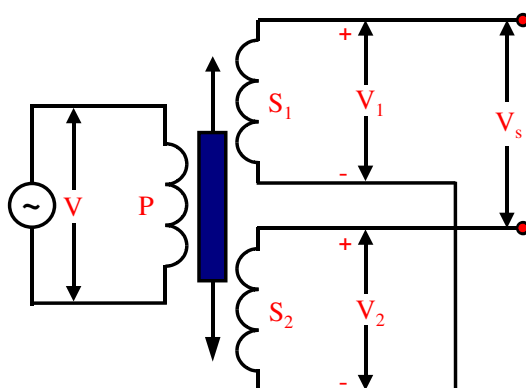


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung des linearen variablen Differentialtransformers (LVDT).  $P$  bezeichnet die Primärspule mit der angelegten Wechselspannung  $V$ . In den beiden gegeneinander gewickelten Sekundärspulen  $S_1$  und  $S_2$  wird – je nach Position des Impaktors – eine Sekundärspannung  $V_s$  induziert.

Das Signal wird in einem nachgeschalteten Interface verstärkt und computergestützt aufgezeichnet. Für die Aufzeichnung wurde ein PC mit 80386-DX-Prozessor (Betriebssystem Windows 3.11) verwendet, ausgerüstet mit einer ISA-LabView-Karte (PC-LPM-16PnP; LabView for Windows, National Instruments, Austin, Texas), die als Analog-Digital-Wandler das Induktionssignal aufnahm. Mit einer hierfür erstellten LabView-Programm-Routine wurde das Signal des Karteneingangs mit einer Scan-Frequenz von 4 kHz abgetastet und abgespeichert. Die graphische Repräsentation dieser LabView-Programm-Routine zeigt Abb. 2.5.

## Kontusionierung

Die narkotisierten Tiere wurden unmittelbar nach der Trepanation in dem Stereotaxie-Rahmen der Kontusionseinheit fixiert. Die Trepanationsfläche wurde sorgfältig gegenüber dem Kontusionsbolzen ausgerichtet. Die biomechanischen Parameter wurden gemäß Tabelle 2.1 eingestellt.

Nach Auslösen der Kontusion wurde auf eine intakte Dura geachtet. Der Trepanationsdefekt wurde mit Zahnzement (Harvard Cement, Harvard Dental-GmbH, Berlin) aufgefüllt. Nach Aushärtung des Zements erfolgte der Hautverschluß und die Ausleitung der Narkose. Zur Vermeidung einer Diffusionshypoxie, bedingt durch das schnelle Anfluten des

<sup>2</sup>Die effektiven Kräfte sind um den Friktionsverlust von approximativ 20 % verringert anzusehen.

<sup>3</sup>1 psi = 0.06893 bar



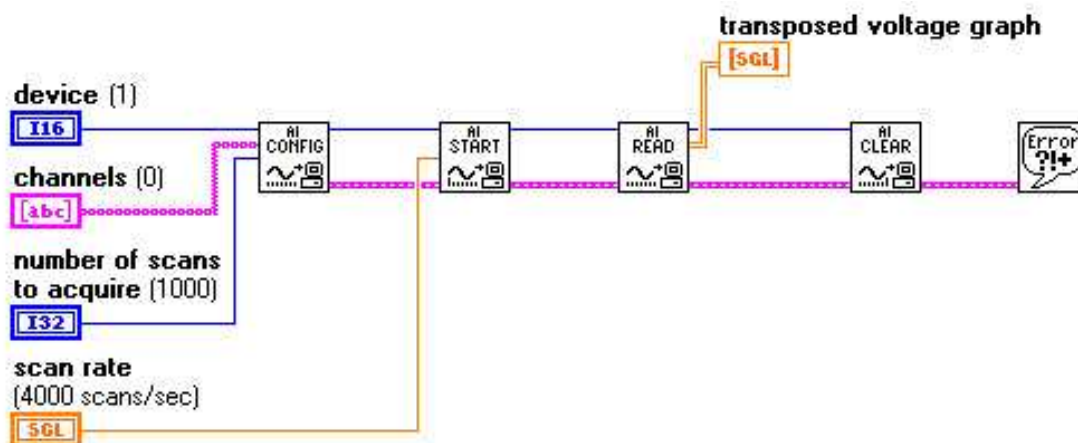


Abbildung 2.5: Graphische Repräsentation der LabView-Programm-Routine zur Aufzeichnung des Induktionssignals der CCII-Apparatur.

Parameter	Wert
Kontusionsdruck <sup>2</sup>	100 psi <sup>3</sup>
Rückholdruck	10 psi
Kontusionskraft	200 N
Rückholkraft	20 N
maximale Impressionsgeschwindigkeit	7.7 m s <sup>-1</sup>
Impressionsdauer	320 ms
Impressionstiefe	2 mm

Tabelle 2.1: Biomechanische Parameter zur Kontusionierung mittels der CCII-Apparatur.

schlecht löslichen N<sub>2</sub>O, wurde den Tieren bis zum Erwachen 100 % O<sub>2</sub> zugeführt. Die Tiere wurden posttraumatisch für 24 Stunden einzeln bei freiem Zugang zu Wasser und Futter in Makrolon®-Käfigen gehalten.

## 2.4 Okklusion der Arteria cerebri media

Für die Durchführung der *Arteria cerebri media*-Okklusion (MCAO) wurden die Tiere in Analogie zu Abschnitt 2.3.1 gelagert. Die dort beschriebene Trepanation wurde hier um die Resektion des Jochbogens erweitert. Nach vorsichtiger Inzision der Dura wurde die *Arteria cerebri media* gemäß Position 2 in Abbildung 2.6, im Bereich des *Tractus olfactorius* aufgesucht, mit einer spitzen Bipolarpinzette kauterisiert und zur Vermeidung einer Reperfusion durchtrennt. Daraufhin erfolgte der Hautverschluß und die Ausleitung der Narkose.

## 2.5 Tiertransport

Die kernspintomographischen Messungen erfolgten in der Abteilung für radiologische Diagnostik am Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin. Die Tiere

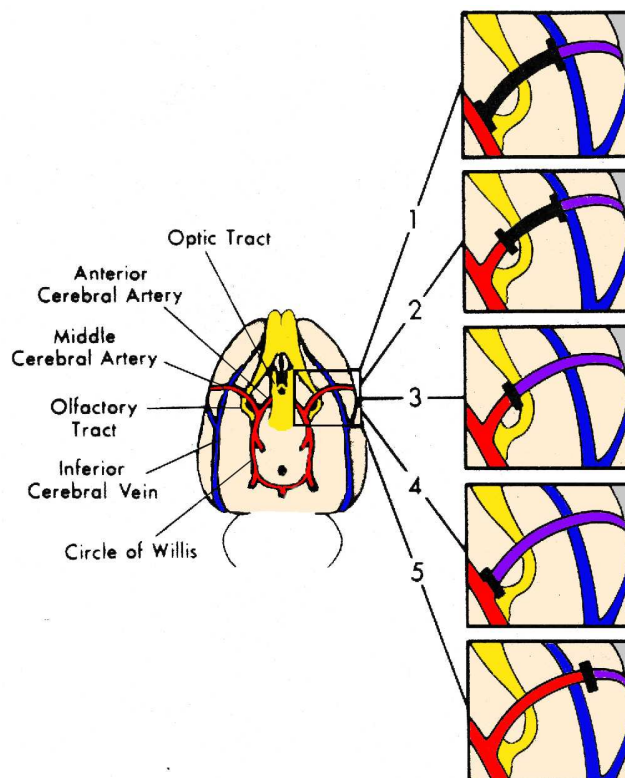


Abbildung 2.6: Okklusion der *Arteria cerebri media* mit 100 % Infarkt-Rate (1), 100 % Infarkt-Rate (2), 67 % Infarkt-Rate (3), 13 % Infarkt-Rate (4), 0 % Infarkt-Rate (5), modifiziert nach Bederson *et al.*, 1985.

wurden nach den operativen Eingriffen in einem Styropor®-ummantelten Makrolon®-Käfig unter Temperaturkontrolle der Transport-Box und unter hinreichender Frischluftzufuhr zum Untersuchungsstandort transportiert.

## 2.6 Magnetresonanztomographie

### 2.6.1 Apparative Ausstattung

Für die magnetresonanztomographischen Untersuchungen stand ein 100 MHz Tomograph, Bruker Biospec 24/40 mit einem 40 cm weiten, horizontalen, supraleitenden Magneten [Niobium-Titanium (NbTi)-Spulen] (Bruker, Karlsruhe) und einer Magnetfeldstärke von 2.35 Tesla zur Verfügung (Abbildung 2.7).

Das Gerät war mit einem aktiv abgeschirmten Gradientenrohr, mit einer maximalen Gradientenstärke von 50 mT/m ausgestattet. Zur Ansteuerung diente der 24 bit-ASPECT-3000 Rechner, mit dem Betriebssystem ADAKOS<sup>4</sup> und dem NMR-Software-Paket TOMIKON.

Im Verlaufe der in dieser Arbeit beschriebenen tierexperimentellen Untersuchungen erfolgte 1998 eine umfangreiche Aufrüstung der Bruker Biospecs von einer MSL auf eine

<sup>4</sup>ADAKOS Aspect Disk And Keybord Operating System



Abbildung 2.7: 2.35 T, heliumgekühlter, supraleitender Magnet, Fa. Bruker, Standort: UKBF, Radiologische Diagnostik

MSL-X11 Elektronik (Abbildung 2.8). Damit übernahm eine Silicon Graphics Personal IRIS (SGI) Workstation mit IRIX 4.0.5F (Unix System Release 3) als Betriebssystem und 128 MByte Hauptspeicher die zentralen Akquisitons-, Prozessierungs- und Ansteuerungsaufgaben. Die unmittelbare Ansteuerung des Synthesizers und Receivers verblieben weiterhin bei dem nun von dem SGI-Rechner angesteuerten ASPECT 3000.

Auf der SGI kam jetzt XWIN-NMR mit dem ParaVision<sup>TM</sup>-Modul als Anwendungs- und Steuerungssoftware zum Einsatz. Dadurch standen zwar zahlreiche, z. T. deutlich optimierte Meß-Sequenzen zur Verfügung, die in den Vorversuchen (Stroop *et al.*, 1998; Unterberg *et al.*, 1997; Stroop *et al.*, 1997) ermittelten und in der Lubeluzol-Studie eingesetzten Parameter mußten jedoch erneut auf die neue Soft- und Hardware angepasst werden. Durch eine Änderung des 24 bit-Bilddatei-Formates auf ein 32 bit-System wurde auch eine Umstellung der Konvertierungs- und Auswertesoftware notwendig.

## 2.6.2 Hardware-Ausstattung

Neben dem erwähnten Silicon Graphics Personal IRIS 4D30-Rechners standen weitere Alpha-Digital Workstations sowie mehrere IBM-kompatible Personalcomputer (AT-486/66 MHz; Pentium II, 300 MHz) und Apple-Macintosh (Power Mac 2000) zur Verfügung.

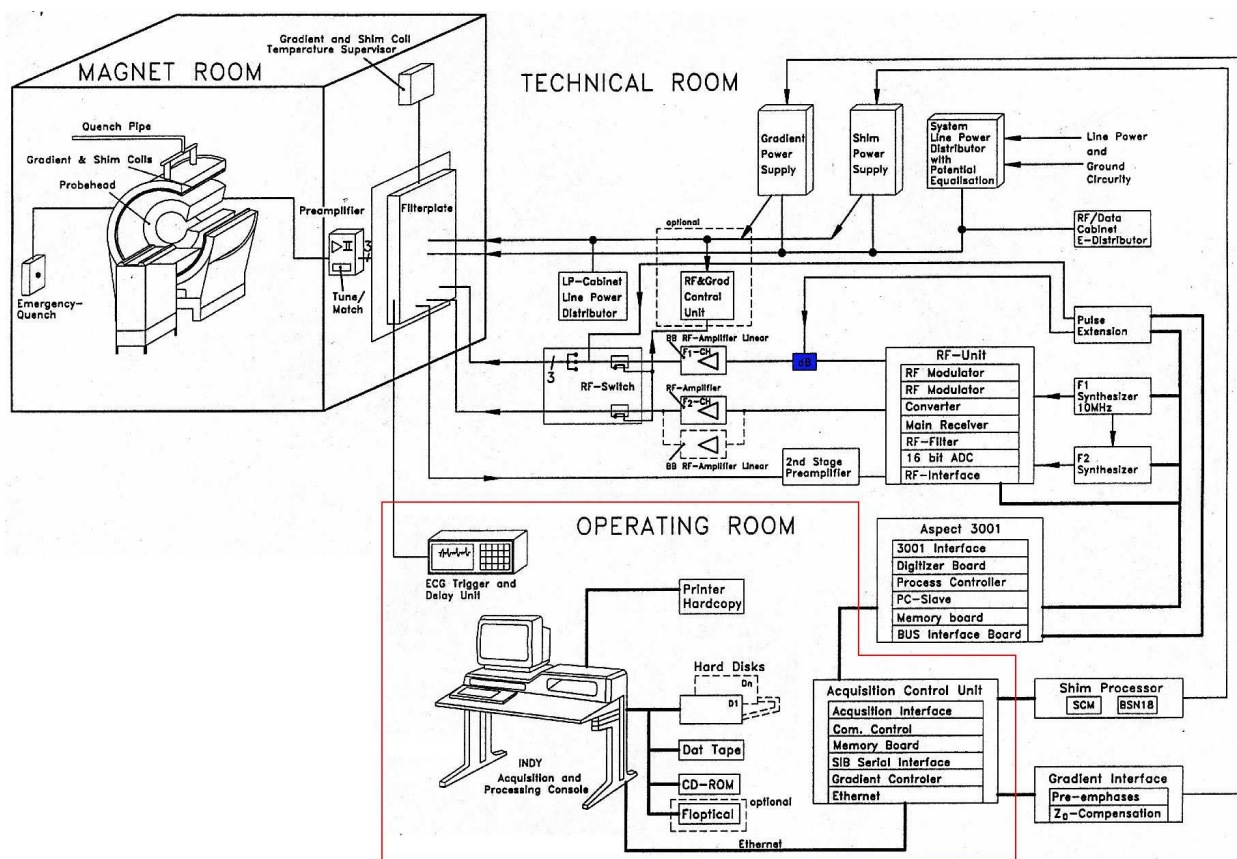


Abbildung 2.8: Schema der MRT-Anlage mit Ansteuerungseinheit und Hardware [MSL-X11-Elektronik mit Silicon Graphics IRIS als Akquisitionskonsole (rotumrandet)]. Aus: Bruker Biospec, Technical Support Handbook.

## 2.6.3 Software

### Konvertierungsroutine

Für die Konvertierung der 24 bit-Bilddaten stand bei Beginn der hier beschriebenen Arbeiten nur eine sehr aufwendige und wenig effiziente MS-DOS basierte Routine zur Verfügung. Diese generierte eine Rohpixelmatrix und erforderte zunächst die manuelle Umbenennung der Einzeldateien, was bei großen Bilddatenmengen kapazitätslimitierend war.

Um diese Limitierung zu umgehen, wurde auf dem SGI-Rechner unter UNIX eine entsprechende Konvertierungsroutine in der Programmiersprache C (Kernighan & Ritchie, 1988) geschrieben. Mit dieser Konvertierungsroutine wurde das 24 bit-Aspect 3000-Bilddatenformat (siehe Abbildung 2.9) in ein gängiges Datenformat überführt, das von einer Auswertungssoftware gelesen werden konnte. Das TIF-Format<sup>5</sup> (Born, 1994) als ein mächtiges und weit verbreitetes Bildformat erfüllt diese Anforderungen.

Die Routine liest aus einem Quellverzeichnis seriell beliebig viele Bilddaten ein, konvertiert diese – wahlweise in ein 8, 16 oder 32 bit-Format – bei gleichzeitiger Reskalierung der 8 bzw. 16 bit-Daten und schreibt diese Daten nach der Festlegung der 'Header'-Struktur und der Initialisierung des 'Image File Directory' (IFD) sowie der darin enthaltenen

<sup>5</sup>TAG-Image-File-Format

Header:	1	2	3	...	4350	4351	4352
Bytes:	1 2 3	4 5 6	7 8 9		13048 13049 13050	13051 13052 13053	13054 13055 13056
Bilddaten:	1	2	3	...	254	255	256
Bytes:	13057 13058 13059	13060 13061 13062	13063 13064 13065		13816 13817 13818	13819 13820 13821	13822 13823 13824
	⋮						
	65281	65282	65283	...	65534	65535	65536
	195843 195844 195845	195846 195847 195847	195848 195849 195850		209656 209657 209658	209659 209660 209661	209662 209663 209664

Abbildung 2.9: Aspect 3000 24 bit-Bilddatenformat: 256 x 256 Matrix-Datei, 3 Byte-Format, mit 13056 Byte langem Header, ergibt eine Gesamtgröße von 209664 Byte.

'Counts', 'TAG' und 'Pointer' als TIF-Format in ein neu erzeugtes Zielverzeichnis. Gleichzeitig erfolgt eine Umbenennung der Dateinamen nach den Konventionen des MS-DOS-Betriebssystems.

Für das 32 bit-Datenformat wurde eine Konvertierungsroutine genutzt, die die ParaVision-Struktur und -Bildformate liest und zum TIF-Format sowie 'Unsigned Short'- und 'Long'-Bildformaten konvertiert. Dieses Programm wurde durch die Abteilung Medizinische Informatik (PD Dr. Dr. Bernarding) entwickelt und zur Verfügung gestellt.

## Analyse- und Statistik-Programme

Die planimetrische Auswertung der T2-gewichteten Bilder erfolgte mit dem 'public-domain' NIH-Image-Programm (National Institutes of Health, USA; verfügbar unter: <http://rsb.info.nih.gov/nih-image>). Die statistische Auswertungen wurden mit SigmaStat 2.0 (Jandel Scientific, San Rafael, Californien) erstellt.

## ADC-Bestimmung

Die Auswertung diffusionsgewichteter Datensätze erfolgte über die pixelweise Berechnung der apparenten Diffusionskoeffizienten, die sich grauwertkodiert zu den sogenannten ADC-Maps zusammensetzen lassen. Hieraus erhält man eine neue Bildqualität, in der unterschiedliche Intensitäten unterschiedliches apparentes Diffusionsverhalten widerspiegeln. Da die TOMIKON-Software nur die Berechnung der apparenten Diffusionskoeffizienten einzelner, selektierter Pixel ermöglichte, wurde ein Programm erstellt, das aus den diffusionsgewichteten Rohdaten unter Angabe der Gradientenstärken eine ADC-Map im TIF-Format errechnet. In dem Programm wurde dazu ein Algorithmus implementiert, der unter Berücksichtigung eines logarithmischen Meßfehlers die Regressionsberechnungen ermöglicht. Die Fitting-Routine dazu entstammt [Press \*et al.\*, 1992](#).

Für die Auswertung der 32 bit-Bilddatenformate wurde ein Programmpaket ([Bernarding \*et al.\*, 1999](#)) der Abteilung Medizinische Informatik (Prof. Tolxdorff) genutzt, das sich aus dem RAMSES-Tool ableitet ([Tolxdorff, 1992](#)). Neben der Generierung von ADC-Maps ermöglicht es eine histogrammbasierte Darstellung zweier beliebiger Bildqualitäten  $p, q$ . Hierbei werden die Pixelintensitäten ( $I_p, I_q$ ) eines Bildpaares in einem 2-D-Plot gegeneinander aufgetragen. Die Häufigkeiten eines Intensitätspaares werden dabei farbkodiert wiedergegeben (siehe Abbildung [3.51](#)). Voraussetzung ist hierbei, daß es sich bei den Bil-



dern um identische Schichten handelt, denen dieselbe Geometrie zugrunde liegt, die sich jedoch in der kernspintomographischen Wichtung unterscheiden.

In dem zweidimensionalen Histogramm lassen sich nun unterschiedliche Punktwolken selektieren. Unter der Vorstellung, daß einander ähnliche Intensitätspaare zweier unterschiedlich gewichteter Bilder ähnlichen Gewebeeigenschaften entsprechen, können diese derart gebildeten Cluster wieder - nun farblich hervorgehoben - in die Bilder zurücktransferiert werden, um eine vereinfachte Bildinterpretation zu ermöglichen.

## 2.6.4 Spulenübersicht

Für die Messungen standen eine Reihe verschiedener Spulentypen zur Verfügung, die hinsichtlich ihrer Spulengüte, des erreichbaren Signal-zu-Rausch Verhältnisses (SNR) sowie der zur Darstellung des Gehirns benötigten Spulengeometrie und des daraus resultierenden Ausleuchtungsbereichs zu beurteilen waren (Abbildung 2.10).

Im einzelnen wurde die Charakteristik folgender Spulen untersucht:

- einer ( $^1\text{H}$ )-Ganzkörperspule, 195 mm Durchmesser (Bruker, Karlsruhe)
- einer ( $^1\text{H}$ )-Ganzkörperspule, 65 mm Durchmesser (Eigenentwicklung des Instituts für Radiologische Diagnostik, UKBF, Berlin; im folgenden als 'UKBF-Spule' benannt.)
- einer ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ )-Doppelresonanz 'Crossover Surface Coil', 50 mm Durchmesser (Bruker, Karlsruhe)
- einer ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ )-Tripelresonanz-Oberflächenspule, 30 mm Durchmesser (Bruker, Karlsruhe)
- einer ( $^1\text{H}$ )-Oberflächenspule, 50 mm Durchmesser (Eigenentwicklung im Rahmen dieser Arbeit in Kooperation mit der Technischen Fachhochschule Berlin, Prof. Vollmann; im folgenden als 'TFH-Spule' bezeichnet)

Die Bestimmung der Spulengüte erfolgte mit einem HF-Analysator (HF-Analysator-System 6409, 1 MHz – 2000 MHz, Wiltron, Californien). Dabei wurde die Spule mit einer über die Zeit, von 97 auf 103 MHz ansteigenden Frequenz belastet (wobbling). Über eine Weiche (Decoupler) wurde die von der Spule reflektierte Leistung abgegriffen und in der Abhängigkeit von der Frequenz auf dem Bildschirm dargestellt (Abbildung 2.11).

In einem als 'tuning' bezeichneten Vorgang wurde die Spule über einen Kondensator auf die Resonanzfrequenz des 2.35 Tesla-Tomographen von 100.29 MHz justiert. Mit einem zweiten Kondensator wurde die Impedanz der Spule auf  $50\ \Omega$  eingestellt und die Reflexion damit minimiert ('matchen')<sup>6</sup>. Aufgrund des geringen 'filling factors' der Oberflächen-Spulen wurden diese Spulen nur unter Vorsatz eines Attenuators von 20 dB eingesetzt (siehe blau unterlegtes Symbol in Abbildung 2.8).

---

<sup>6</sup>Strenggenommen lassen sich 'matchen' und 'tunen' nicht getrennt betrachten, da beide Kondensatoren beide Vorgänge bewirken.

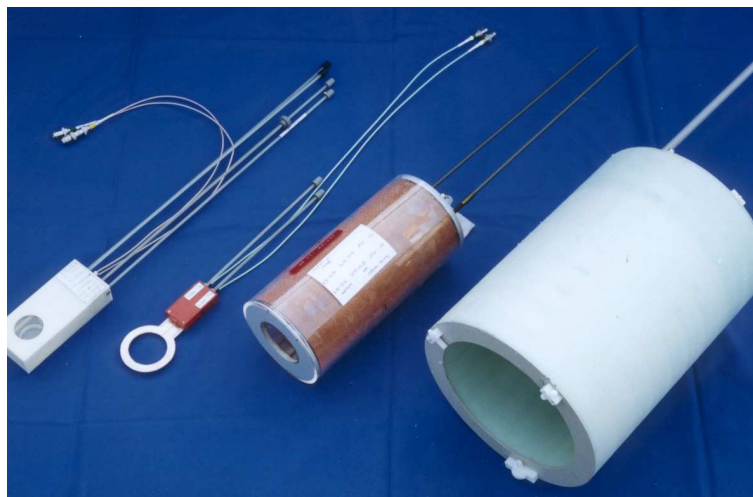


Abbildung 2.10: Tripelresonanz-Oberflächenspule, 30 mm  $\varnothing$  ; Crossover Surface Coil, 50 mm  $\varnothing$  ; Ganzkörperspule, 65 mm  $\varnothing$  ; Ganzkörperspule, 195 mm  $\varnothing$  (v.l.n.r.).

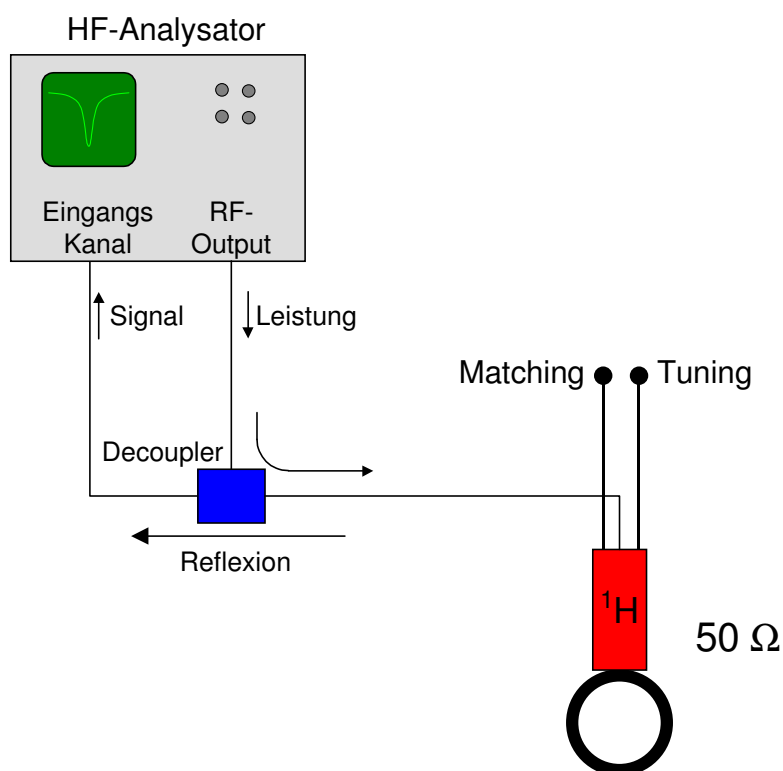


Abbildung 2.11: HF-Analysator-System mit Decoupler zur Bestimmung der Spulengüte.

### 2.6.5 Kernspintomographische Meßsequenzen

Zur clusteranalytischen Auswertung der verschiedenen Bildqualitäten einer tierexperimentellen Serie wurden die geometrischen Sequenzparameter Matrixgröße, Field-of-View, Schichtdicke und Schichtposition bei allen Sequenzen identisch gewählt.

Die Aufrüstung des Kernspintomographen stellte eine Reihe zusätzlicher, z. T. deutlich

verbesserter Sequenzprotokolle zur Verfügung. Daher wurde die Parametrierung der Sequenzen erneut überprüft und entsprechend angepaßt, bzw. alte Sequenzen durch leistungsstärkere der neuen ParaVision-Software ersetzt. Im folgenden sind die eingesetzten Sequenzprotokolle basierend auf der TOMIKON-Software und der neuen ParaVision-Software aufgelistet.

Zur Kontrolle der Pulsfolge, sowie zur Bestimmung der Gradientenamplituden wurden ein Oszilloskop (Tektronix 2465 A, Tektronix Guernsey Ltd., Guernsey, Channel Islands, GB) eingesetzt.

## T2-gewichtete Bildgebung

Für die T2-gewichtete Bildgebung wurde in beiden tierexperimentellen Studien eine RARE-Sequenz<sup>7</sup> genutzt. Die Positionierung des Tieres erfolgte anhand einer kurzen RARE-Sequenz (NoA = 1) in axialer Schichtführung<sup>8</sup>. Die Tabellen 2.2 und 2.3 zeigen die Parameter der TOMIKON bzw. ParaVision-Sequenz, Abbildung 2.12 zeigt das Sequenzschema der Paravison-RARE-Sequenz.

TOMIKON-Sequenz	
Parameter	Wert
Sequenz	RARE
Nukleus	$^1\text{H}$
Repetitionszeit	3300 ms
Echozeit	30 ms
Echozeit, effektiv	120 ms
RARE-Faktor	8
Anzahl der Mittelungen	14
Gesamtmeßzeit	13 min 9 s
Matrixgröße	128 x 128
Schichtdicke	3 mm
Anzahl der Schichten	9
Schichtabstand	0 mm
Field of View	42.5 mm
Readgradientenstärke	6.942 mT/m

Receiver-Gain	
Spule	50 mm $\varnothing$ Crossover Surface Coil
$\pi/2$ -Puls	26 dB
$\pi$ -Puls	46 dB

Tabelle 2.2: Parameter der T2-gewichteten RARE-Sequenz (TOMIKON-Software)

<sup>7</sup>RARE Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement

<sup>8</sup>In den NMR-Softwarepaketen werden die Bildgebungsebenen *axial* und *koronar* in den Sequenzprotokollen gemäß der Situation beim Menschen interpretiert. Aufgrund der um  $90^\circ$  gedrehten Kopflage der Ratte ergibt eine koronare Sequenz ein anatomisch gesehen axiales Bild. Um Verwirrungen zu vermeiden, wird hier konsequent auf die anatomischen Verhältnisse Bezug genommen.



ParaVision-Sequenz	
Parameter	Wert
Sequenz	RARE
Nukleus	$^1\text{H}$
Repetitionszeit	3300 ms
Echozeit	11 ms
Echozeit, effektiv	88 ms
RARE-Faktor	16
Anzahl der Mittelungen	4
Gesamtmeßzeit	1 min 50 s
Matrixgröße	128 x 128
Schichtdicke	2 mm
Schichtabstand	0 mm
Anzahl der Schichten	9
Field of View	42.5 mm
Schicht-Schema	sequentiell
Puls-Form	Hermite

Receiver-Gain	
Spule	50 mm $\varnothing$ TFH-Surface Coil
$\pi/2$ -Attenuation	20 dB
$\pi$ -Attenuation	13 dB
Receiver-Gain	120

Tabelle 2.3: Parameter der T2-gewichteten RARE-Sequenz (ParaVision-Software)

### T1-gewichtete Messungen

Die T1-gewichteten, sowie die post-Kontrast-T1-gewichteten Messungen erfolgten mit einer Multi Slice Single Echo Technik (MSSE), bzw. mit einer speziell an die T1-Wichtung adaptierten RARE-Sequenz. Die Tabellen 2.4 und 2.5 zeigen die Parameter der TOMIKON bzw. ParaVision-Sequenz, Abbildung 2.13 zeigt das Sequenzschema (Paravison) der RARE-Sequenz für die T1-gewichtete Bildgebung.

### Diffusionsgewichtete Bildgebung

Die diffusionsgewichtete Bildgebung erfolgte unter der TOMIKON-Software mit der STED (Stimulated Echo Diffusion Imaging)-Sequenz. (Parameter siehe Tabelle 2.6.) Aufgrund der in dieser Sequenz nicht durchführbaren Schichtpositionierung und der Begrenzung auf eine Schicht war die exakte Positionierung des Tieres in dem Magneten entscheidend. Die unter der ParaVision-Software genutzte SE (Spin-Echo)-Diffusionssequenz (Abbildung 2.14 und Tabelle 2.7) ermöglichte die freie Schichtausrichtung, ohne Limitierung der Schichtzahl.

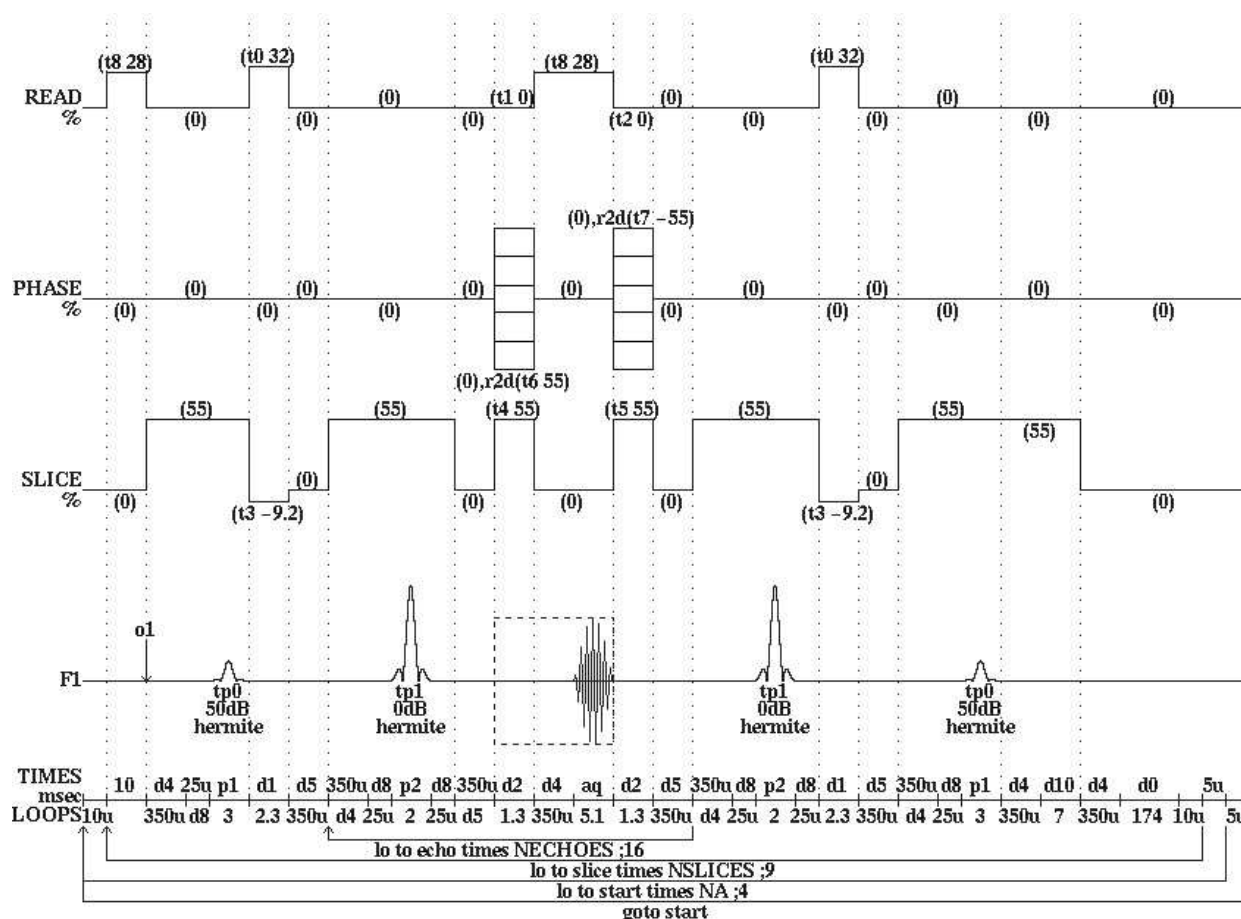


Abbildung 2.12: Schema der T2-gewichteten RARE-Pulssequenz mit Gradientenschaltzeiten. In der obersten Reihe sind die Schaltzeiten des Readgradienten dargestellt, die zweite Reihe stellt die zyklisch inkrementierten Phasenkodiergradienten dar, die Schichtselektion erfolgt mit den in der dritten Reihe skizzierten Gradienten, die während der in der vierten Reihe dargestellten HF-Impulse ( $\pi/2$  und  $\pi$ ) geschaltet werden. In der untersten Reihe sind die Länge und die Wiederholungen der Schaltzeiten notiert.

TOMIKON-Sequenz	
Parameter	Wert
Sequenz	MSSE
Nukleus	$^1\text{H}$
Repetitionszeit	500 ms
Echozeit	12.2 ms
Anzahl der Mittelungen	8
Gesamtmeßzeit	8 min 38 s
Matrixgröße	128 x 128
Schichtdicke	3 mm
Schichtabstand	0 mm
Anzahl der Schichten	9
Field of View	42.5 mm

Receiver-Gain	
Spule	50 mm $\varnothing$ Crossover Surface Coil
$\pi/2$ -Puls	26 dB
$\pi$ -Puls	46 dB

Tabelle 2.4: Parameter der T1-gewichteten MSSE-Sequenz (TOMIKON-Software)

ParaVision-Sequenz	
Parameter	Wert
Sequenz	MSSE
Nukleus	$^1\text{H}$
Repetitionszeit	500 ms
Echozeit	11 ms
Anzahl der Mittelungen	8
Gesamtmeßzeit	4 min 20 s
Matrixgröße	128 x 128
Schichtdicke	2 mm
Schichtabstand	0 mm
Anzahl der Schichten	9
Field of View	42.5 mm
Schicht-Schema	sequentiell
Puls-Form	Hermite

Receiver-Gain	
Spule	50 mm $\varnothing$ TFH-Surface Coil
$\pi/2$ -Attenuation	19 dB
$\pi$ -Attenuation	13 dB
Receiver-Gain	250

Tabelle 2.5: Parameter der T1-gewichteten MSSE-Sequenz (ParaVision-Software)



TOMIKON-Sequenz			
Parameter		Wert	
Sequenz		STED	
Nukleus		$^1\text{H}$	
Repetitionszeit		1000 ms	
Echozeit		24 ms	
TM		122	
Diffusionsgradientendauer		10 ms	
Diffusionsgradientenseparation		135 ms	
Anzahl der Mittelungen		4	
Gesamtmeßzeit		8 min 37 s	
Matrixgröße		128 x 128	
Schichtdicke		3 mm	
Schichtabstand		0 mm	
Anzahl der Schichten		1	
Field of View		42.5 mm	
Readgradientenstärke		6.942 mT/m	
Zahl der Diffusionswichtungen		4	

Diffusionsgradienten			
$g_{d0}$	0 mT/m	$b_0$	0 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d1}$	21 mT/m	$b_1$	430 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d2}$	32 mT/m	$b_2$	950 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d3}$	40 mT/m	$b_3$	1500 s/mm <sup>-2</sup>

Receiver-Gain	
Spule	50 mm $\varnothing$ Crossover Surface Coil
$\pi/2$ -Puls	70 dB

Tabelle 2.6: Parameter der STED-Sequenz (TOMIKON-Software)

ParaVision-Sequenz			
Parameter		Wert	
Sequenz		SE-Diffusion	
Nukleus		$^1\text{H}$	
Repetitionszeit		1500 ms	
Echozeit		56.4 ms	
Diffusionsgradientendauer		21.5 ms	
Diffusionsgradientenseparation		25 ms	
Anzahl der Mittelungen		2	
Gesamtmeßzeit		19 min 18 s	
Matrixgröße		128 x 128	
Schichtdicke		2 mm	
Schichtabstand		0 mm	
Anzahl der Schichten		9	
Field of View		42.5 mm	
Readgradientenstärke		13.8 mT/m	
Readgradientenrichtung		Readgradient	
Zahl der Diffusionswichtungen		3	

Diffusionsgradienten			
$g_{d0}$	1 mT/m	$b_0$	1 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d1}$	29 mT/m	$b_1$	500 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d2}$	45 mT/m	$b_2$	1200 s/mm <sup>-2</sup>

Receiver-Gain	
Spule	50 mm ø TFH-Surface Coil
$\pi/2$ -Attenuation	19 dB
$\pi$ -Attenuation	13 dB
Receiver-Gain	350

Tabelle 2.7: Parameter der SE-Diffusion-Sequenz (ParaVision-Software)

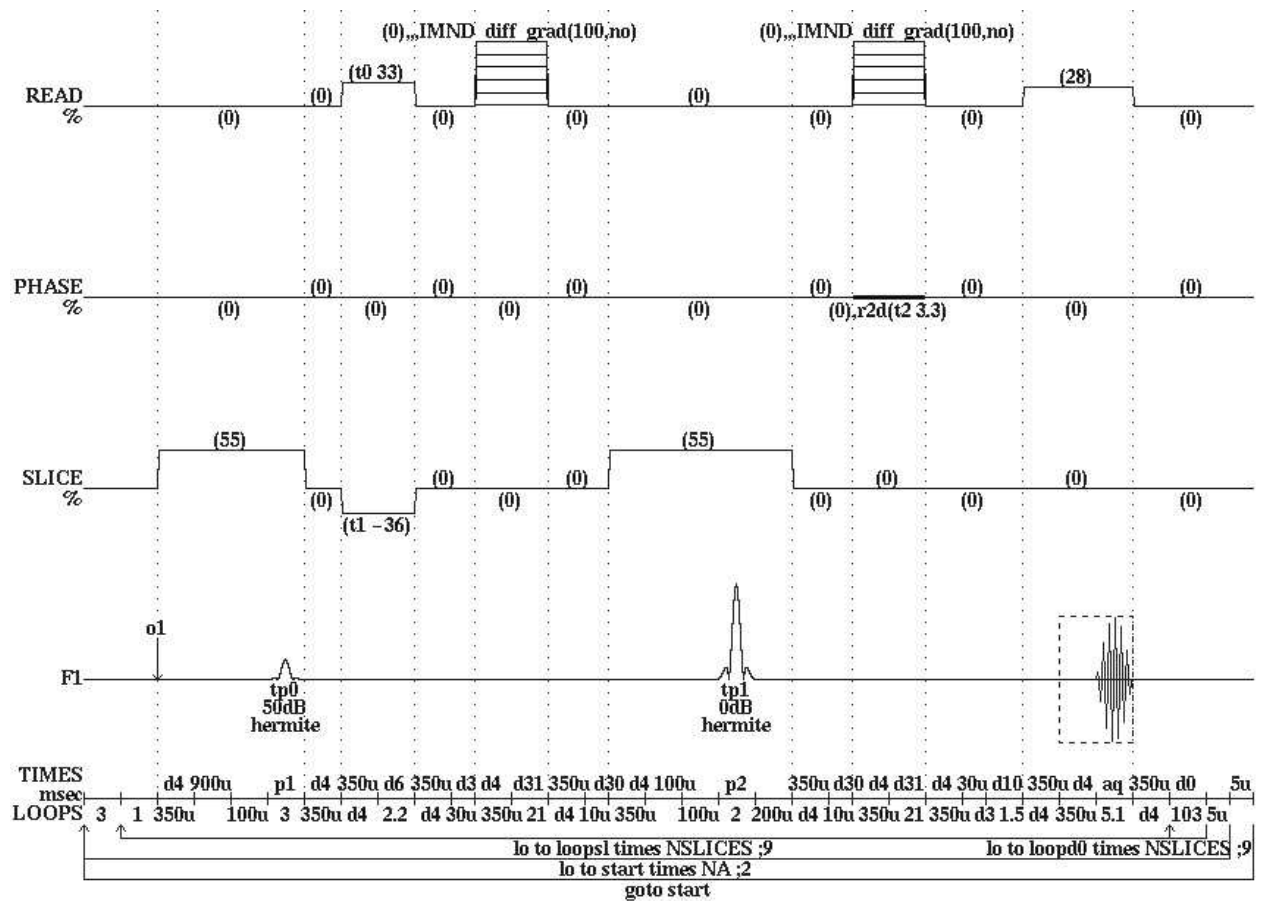


Abbildung 2.14: Schema der diffusionsgewichteten SE-Pulssequenz mit Gradientenschaltzeiten. In der ersten Reihe sind neben den in Abbildung 2.12 erläuterten Gradienten zusätzlich die Diffusionsgradienten eingefügt.

### 2.6.6 Kontrastmittel

Die Kontrastmittelbildung erfolgte mit den gleichen T1-gewichteten Aufnahmesequenzen der TOMIKON, bzw. ParaVision-Software. Als Kontrastmittel wurde Magnevist (INN: Gadopentensäure, Dimeglumin-Salz; Schering, Berlin) eingesetzt. Dieses wurde über eine mittels einer Venenverweilkanüle (Neoflon® 24 G/19 mm; Helsingborg, Schweden) punktierten lateralen Schwanzvene appliziert. Den Tieren wurde eine Dosis von 0.1 mg/kg KG verabreicht. Die Messungen wurden 30 Sekunden nach Applikation gestartet.

### Tierlagerung

Aufgrund der nicht vermeidbaren Bewegungsunruhe sind verwertbare diffusionsgewichtete Bilder nur durch Schnellbildsequenzen wie EPI (Echoplanar Imaging) oder speziellen Techniken wie dem Navigator-Echo erzeugbar.

Da diese Techniken jedoch am zur Verfügung stehenden, tierexperimentellen System nicht implementiert und die alleinige Sedierung bzw. Anästhesie der Versuchstiere für das DWI nicht hinreichend waren, bedurfte es einer mechanischen Fixierung des Rattenkopfes, um die Bewegung durch Atemexkursion und Herzschlag weitgehend zu eliminieren. Zu diesem Zwecke wurde ein spezieller, aus Teflon® und Polyacryl bestehender MRT-kompatibler, stereotaktischer Halter angefertigt (Abbildung 2.15).

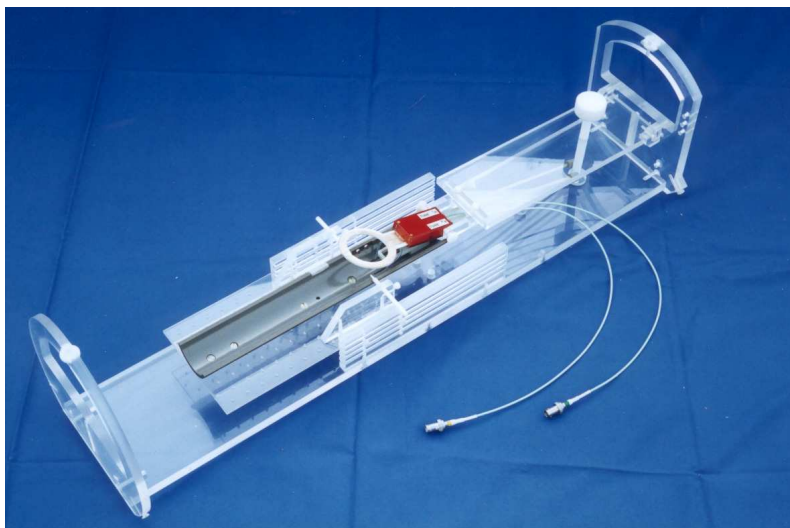


Abbildung 2.15: MRT-kompatibler, stereotaktischer Rahmen zur Platzierung der Ratte im Kernspintomographen.

Den Grundkörper dieser Halterung bildete ein aus Teflon® bestehendes, 5 cm im Durchmesser messendes Drittelrohr, in dem das Tier gelagert wurde. Über eine etwa  $3 \times 8 \text{ cm}^2$  weite Aussparung dieser Rinne kam es in Kontakt zu einer von unten herangeführten Wärmematte. Die Schneidezähne der Maxilla lagen auf einem U-förmigen Bügel, montiert auf einen Sockel, der in axialer Richtung über ein Langloch in der Lagerungsrinne verschiebbar war. Über eine über den Nasenrücken geführte und unterhalb der Lagerungsrinne fixierte Schlaufe wurde der Oberkiefer auf dem Bügel gehalten. Zwei konisch zulaufende Halterungsstiftchen, die in einem jeweils parallel zur Lagerungsschiene montierten Seitensockel mit einer Schraube fixiert werden können, ließen sich in den *Meatus*



*acusticus externus* vorschieben, um den Kopf seitlich zu halten. Desweiteren wurde für die Isofluran/N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub>-Narkose eine Maske mit Abluftsystem eingebaut. Diese Halterung war als Ganzes auf einer Polyacrylplatte montiert, die in einen Positionierungsrahmen, in diskreten Stufen höhen- sowie kontinuierlich axialverstellbar, eingeführt werden konnte. Gleichzeitig konnte über einen flexiblen Schwenkarm die Oberflächenspule, ebenfalls höhenverstellbar sowie in x-Richtung rotierbar, adjustiert werden.

Dieser Positionierungsrahmen konnte, nach sorgfältiger Ausrichtung des Tieres und der Spule millimetergenau in die Bohrung des Tomographen vorgeschoben werden, so daß die Spulenmitte in das Zentrum des Magneten plaziert werden konnte. Diese exakte Positionierung war insofern von Bedeutung, als daß die STED-Sequenz der TOMIKON-Software keine softwaremäßige Schichtpositionierung ('distance to isocenter') zuließ.

## Temperaturkontrolle

Während der bis zu 90-minütigen, kernspintomographischen Messungen wurde eine aktives Wärmen der Tiere notwendig, um die Körperkerntemperatur der Tiere innerhalb des physiologischen Temperaturbereichs von 36.5- 37.5 °C aufrechtzuerhalten. Diese Temperierung war neben dem Bemühen, die physiologischen Randbedingungen möglichst einzuhalten, insbesondere für die temperatursensitiven diffusionsgewichteten Messungen Voraussetzung (Niendorf *et al.*, 1993).

Aufgrund der Interferenzen handelsüblicher, elektronisch betriebener Wärmematten mit dem Tomographen, wurde ein wasserdurchflossener, feedback-kontrollierter Wärmetauscher konstruiert. Dieser bestand aus einem Thermostaten (F3; Fa. Haake, Karlsruhe), der über ein temperierbares, 2 – 3 Liter fassendes Wasserbad verfügte, das mittels eines Druck- und Saugpumpenstutzen über ein externes System umgewälzt werden konnte. Die Temperatur-Sollwertvorgabe ließ sich bei einer Temperaturkonstanz von  $\pm 0.01^\circ\text{C}$  auf  $0.1^\circ\text{C}$  Präzision vorgeben. Es konnte wahlweise von internen (Istwert: Wasserbadtemperatur) auf externen Regelungsmodus umgeschaltet werden. Das Gerät wurde außerhalb des Kern-Magnetfeldes aufgestellt. Als Wärmematte wurde ein dickwandiger Polyethylenbeutel verwendet, der über eine Langlochbohrung in der Lagerungsschale unmittelbaren und breitbasigen Kontakt (ca.  $3 \times 8 \text{ cm}^2$ ) zur ventralen Rumpfseite des Tieres erhielt. Die Wärmematte wurde über zwei, jeweils 3 m lange, 8 mm Innendurchmesser messende Polyethylenschläuche mit den Druck- bzw. Saugstutzen des Thermostaten verbunden und konnte so bewegungsarm perfundiert werden. Ein wasserdurchflossenes Glaslabyrinthsystem zur Temperierung mußte hier verworfen werden, da aufgrund der Strömungsturbulenzen Bewegungsartefakte entstanden, die die diffusionsgewichtete Bildgebung empfindlich störten.

Durch einen externen Pt100 Regelfühler<sup>9</sup>, der als Istwert die Körperkerntemperatur des Tieres aufnahm, wurde der Regelkreis geschlossen. Da die kommerziellen, stahlummantelten Temperatursonden ausschieden, wurde ein Pt100-Temperatursensor, Toleranz  $\frac{1}{3}$  DIN B = 0.04, entspricht  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  (Conrad Electronic, Berlin) über eine 3 m lange abgeschirmte Cu-Steuerungslitze ( $0.14 \text{ mm}^2$ ), Außendurchmesser 3.7 mm verlötet, die mittels eines 5-poligen Diodenstecker, 180 °, 5A/60 V (Conrad Electronic, Berlin) Eingang in den Thermostaten fand. Der Pt100 und die Anschlußstrecke wurden zur Isolation beider

---

<sup>9</sup>Pt100 bezeichnet ein PTC-Platin Thermistor, der bei  $0^\circ\text{C}$  einen Widerstandswert von  $100 \Omega$  aufweist.

Adern und zum Schutz des Tieres bei rektaler Temperaturmessung mittels Epoxid-Harz (Marston-Domset, Zülpich) dünnsschichtig überzogen.

### 2.6.7 Kernspintomographische Bestimmung der Kontusionsvolumina

Die Bestimmungen der Ödemvolumina erfolgte durch Auswertung der T2-gewichteten Bilder mit dem NIH-Image Programm. Mit der Funktion 'density slice' wurde ein Grauwertbereich festgelegt, der der Ödemausdehnung in der am stärksten kontusionierten Schicht entsprach. Dieser Bereich wurde für die Bestimmung des Ödemareals in die übrigen Schichten transferriert (Funktion 'propagate'). Desweiteren wurden die Gesamtflächen der traumatisierten Schichten planimetriert. Über die Relation

$$p = \frac{\text{FOV}}{\text{Matrixgröße}} \quad (2.1)$$

wurden die Pixellänge  $p$  und damit die Flächen berechnet. Die Multiplikation mit der Schichtdicke ergab bei einer Zwischenschichtdistanz von 0 mm die Volumina. Die Auswertung wurde für die Kontrastmittelextravasation der postkontrast T1-gewichteten Messungen entsprechend durchgeführt.

### 2.6.8 Histologische Bestimmung der Kontusionsvolumina

Für die histologische Quantifizierung des Kontusionsschadens erfolgte nach den kernspintomographischen Meßreihen die Hirnentnahme. Hierzu wurden die tief narkotisierten Tiere (3 % Isofluran, O<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>O, 2:1) thorakotomiert. Über die Punktion des linken Herzventrikels erfolgte die Perfusions-Fixation mit einer 4 %igen Formaldehyd-Lösung. Das Gehirn wurde in toto entnommen und 10 Tage in 4 %iger Formaldehyd-Lösung fixiert. Dann erfolgte die Entwässerung in Ethanol über 2 Tage und die Paraffineinbettung. Nach der Aushärtung wurden mit einem Mikrotom 10 µm dicke, koronare Schnitte im Abstand von 400 µm angefertigt, die auf einem beschichteten Objektträger fixiert wurden. Die in Xylol/Ethanol entparaffinierten Schnitte wurden dann 5 min in Hämalanlösung an- und nach Spülung in destilliertem Wasser und 1 % iger HCl/Ethanol-Lösung mit 0.5 %iger Eosin-Lösung 8 min gegengefärbt. Die Präparate wurden anschließend in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und mit Eukitt (Merck, Deutschland) eingedeckt.

Die histologischen Präparate wurden mit einem Sharp JX-330 (Sharp Europe, Hamburg) gescannt, so daß die Kontusionsfläche der digitalisierten Schnittbilder computergestützt (SigmaScan 2.0; Jandel Scientific, San Rafael, Californien) planimetriert werden konnten.

## 2.7 MCA-Okklusionsuntersuchung

Als Vorversuche für die Lubeluzol-Studie wurde an zwei Tieren die in Abschnitt 2.4 beschriebene Okklusion der *Arteria cerebri media* durchgeführt. Es wurde zu den Zeitpunkten 90 Minuten, 6 und 24 Stunden das für die im nächsten Abschnitt der Lubeluzol-Studie beschriebene MRT-Protokoll durchgeführt. Die Auswertung der Bilddaten erfolgte analog mit dem NIH-Programm.

## 2.8 Lubeluzol-Studie

Die MRT-Untersuchungen mit dem Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS)-Pathway-Modulator Lubeluzol (Prosynap<sup>TM</sup>, R087926; Janssen Research Foundation, Beerse, Belgien), siehe Abbildung 2.16, erfolgte an 18 Tieren, bei denen eine links parietotemporale Kontusion induziert wurde (s. Abschnitt 2.3).

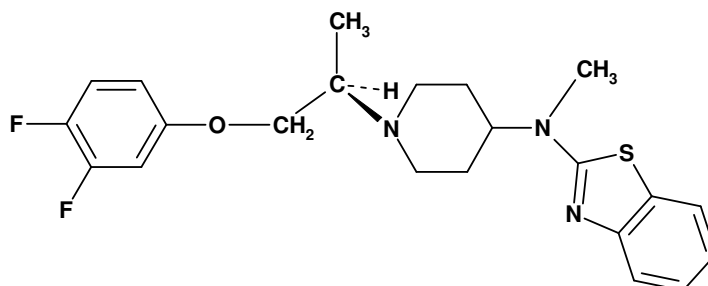


Abbildung 2.16: Molekülstruktur des Lubeluzol ((+)-(S)-4-(2-Benzothiazolylmethylamino)- $\alpha$ -[(3,4-difluorophenoxy)methyl]-1-piperidinethanol.)

Neun der zufällig zu der Verum-Gruppe zugeordneten Tiere wurde die Substanz in einer Dosierung von 0.8 mg/kg KG jeweils nach 15 und 75 Minuten nach Trauma appliziert. Die übrigen neun Tiere erhielten die wirkstofffreie Trägerlösung. Die Substanz, wie auch die wirkstofffreie Trägerlösung, wurden über eine mit einer Venenverweilkanüle punktierten lateralen Schwanzvene verabreicht. Die Tiere wurden 90 Minuten, 6 und 24 Stunden nach Trauma kernspintomographisch untersucht. Die Messungen wurden unter der TOMIKON-Software durchgeführt, als Spule kam die 50 mm  $\phi$  Crossover Surface Coil zum Einsatz. Dazu wurde jeweils das folgende Meßprotokoll durchgeführt (s. Abschnitt 2.6.5):

TOMIKON-Sequenzen		
Positionierungssequenz	axial	RARE
T2-Wichtung	koronar	RARE
Diffusions-Wichtung	koronar	STED
T1-Wichtung	koronar	MSSE
T1-postkontrast-Wichtung (t1)	koronar	MSSE
T1-postkontrast-Wichtung (t2)	koronar	MSSE
T1-postkontrast-Wichtung (t3)	koronar	MSSE
T1-postkontrast-Wichtung (t4)	koronar	MSSE

Tabelle 2.8: Protokoll der MRT-Meßsequenzen der Lubeluzol-Untersuchung mit T1-postkontrast-Wichtungen in jeweils 10 minütigem Abstand von t1 - t4.

Die Bestimmung der Kontusionsvolumina erfolgte gemäß der Beschreibung in Abschnitt 2.6.7. In unmittelbarem Anschluß an die kernspintomographischen Messungen erfolgte die Hirnentnahme zur histologischen Volumetrie der Kontusionsgröße (s. Abschnitt 2.6.8).

Parallel hierzu wurden pathophysiologische und gravimetrische Untersuchungen durchgeführt: Weitere 18 Tiere (Gruppe 2) wurden bei gleicher Dosierung wie in der MRT-Studie in eine Verum- (n=9) und Plazebo-Gruppe (n=9) aufgeteilt. 23 h 30 min nach

Trauma wurde über ein 4 mm  $\varnothing$  weites, rechts parietales Bohrloch mit einem Mikro-manipulator eine intrakranielle Drucksonde (Codman) intraparenchymatös (6 mm Tiefe) inseriert. Der intrakranielle Druck (ICP) sowie der über einen *Arteria femoralis*-Katheter gemessene mittlere arterielle Druck<sup>10</sup> (MABP) wurden über 10 Minuten aufgezeichnet, anschließend wurde eine Blutgaskontrolle durchgeführt. 24 Stunden nach Trauma erfolgte die Hirnentnahme. Unmittelbar anschließend wurde nach sorgfältiger Trennung der linken und rechten Hemisphäre in der anatomischen Medianlinie die Hemisphärenschwellung (Gleichung 2.2) und der Wassergehalt (Gleichung 2.3) aus den Feuchtgewichten  $m(\text{re}, \text{li})_f$  und – nach 24 stündiger Trocknung bei 100 °C – den Trockengewichten  $m(\text{re}, \text{li})_t$  bestimmt.

$$\text{Hemisphärenschwellung \%} = \frac{m(\text{li})_f - m(\text{re})_f}{m(\text{re})_f} \cdot 100 \quad (2.2)$$

$$\begin{aligned} \text{Wassergehalt}(\text{re}) \% &= \frac{m(\text{re})_f - m(\text{re})_t}{m(\text{re})_f} \cdot 100 \\ \text{Wassergehalt}(\text{li}) \% &= \frac{m(\text{li})_f - m(\text{li})_t}{m(\text{li})_f} \cdot 100 \end{aligned} \quad (2.3)$$

Diese Ergebnisse sind bereits publiziert (Kroppenstedt *et al.*, 1999). Den zeitlichen Verlauf beider Untersuchungen skizziert Abbildung 2.17.

## 2.9 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen

Die 7-tägigen Verlaufsuntersuchungen wurden an 10 Tieren erhoben. Die Tiere wurden 48 Stunden vor, sowie 90 Minuten, 6, 24, 48 Stunden und 7 Tagen nach links parietotemporaler Kontusion (s. Abschnitt 2.3) kernspintomographisch untersucht. Die Messungen erfolgten mit der ParaVision-Software, es wurde die 50 mm  $\varnothing$   $-(^1\text{H})$ -Oberflächenspule (TFH) verwendet.

ParaVision-Sequenz		
Positionierungssequenz	axial	RARE
T2-Wichtung	koronar	RARE
Diffusions-Wichtung	koronar	SE-Diffusion
T1-Wichtung	koronar	RARE
T1-postkontrast-Wichtung (t1)	koronar	RARE
T1-postkontrast-Wichtung (t2)	koronar	RARE
T1-postkontrast-Wichtung (t3)	koronar	RARE
T1-postkontrast-Wichtung (t4)	koronar	RARE

Tabelle 2.9: Protokoll der MRT-Meßsequenzen der 7-tägigen Verlaufsuntersuchungen

Die Datenauswertung erfolgte mit dem NIH- und dem Clusteranalyse-Programm.

<sup>10</sup>MABP = diastolischer Druck +  $\frac{1}{3}$ (systolischer Druck - diastolischer Druck)

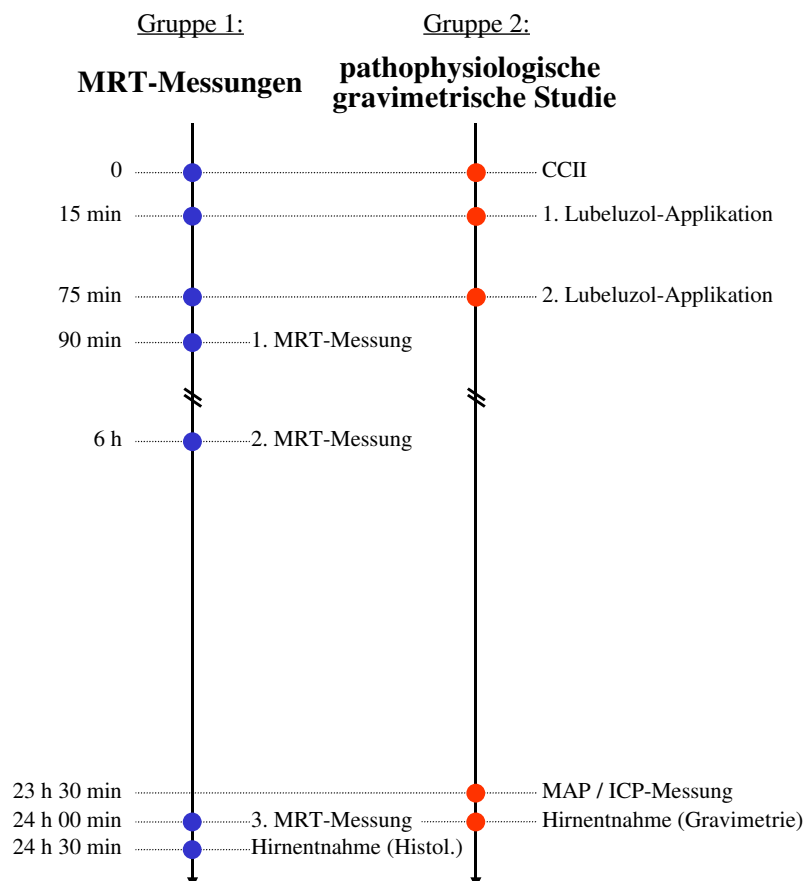


Abbildung 2.17: Zeitlicher Verlauf der Lubeluzol-Untersuchungen

## 2.10 Statistik

Die statistischen Analysen wurden mit dem nichtparametrischen Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben (Mann-Whitney-Wilcoxon U-Test), dem nichtparametrischen Test für paarige Stichproben (Wilcoxon-Test), sowie dem nichtparametrischen Mehr-Stichproben-Test für verbundene Stichproben (Friedman-Test) mit post hoc Analyse (Dunn's) durchgeführt. Korrelationen wurden mit dem Spearmanschen Rangkorrelationskoeffizienten  $r_s$  beschrieben. Es wurde jeweils ein Signifikanz-Niveau von  $p < 0.05$  angenommen. Die Daten wurden als Median  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In einigen Graphiken wurden die Standardabweichungen aus Gründen der Übersichtlichkeit nur unidirektional aufgetragen, es ist aber in diesen Fällen jeweils von einer bidirektionalen Standardabweichung auszugehen. Die Durchführung der statistischen Analysen erfolgte mit dem Programm SigmaStat 2.0 (Jandel Scientific, San Rafael, Californien).

# Kapitel 3

## Ergebnisse

### 3.1 Biomechanik des CCII-Modells

Die mit der LabView-Routine digitalisierten Daten des linearen variablen Differentialtransformers ermöglichten die Beschreibung der Kinetik des Bolzenschlags. Die Darstellung dieser Daten in einem Weg-Zeit-Diagramm zeigt Abbildung 3.1. Der erste, schmalere Peak der Kurve entspricht der Akzelerationsbewegung des Bolzens, der zweite, breitere Peak beschreibt die langsamere Rückholbewegung. Über den Abstand beider Peaks wurde die Kontaktzeit, also die Dauer der Impression (delay) kontrolliert. Diese betrug in den beiden Untersuchungsserien  $0.318 \pm 0.005$  s (n=18) bzw.  $0.320 \pm 0.004$  s (n=9).

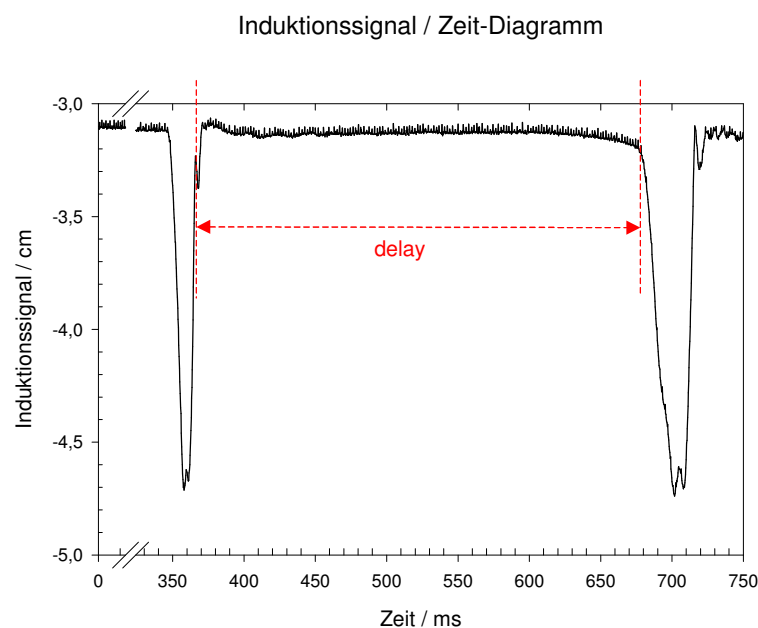


Abbildung 3.1: Weg-Zeit-Diagramm zur Darstellung des Kontusionsablaufes. Die Dauer der Impression wird über die delay-Zeit beschrieben.

Die zeitliche Spreizung des Akzelerations-Peaks zeigte auch bei Mittelung mehrerer Kontusionsstöße eine gute Reproduzierbarkeit (Abbildung 3.2).

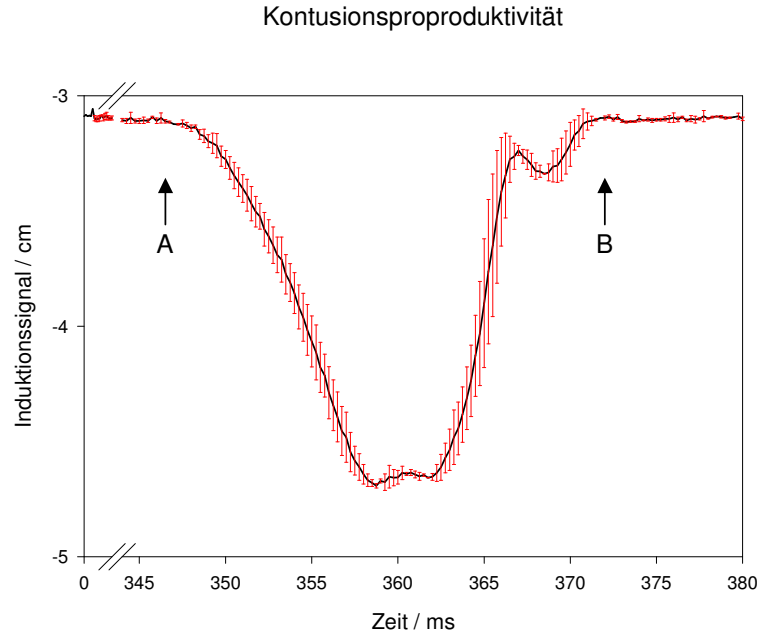


Abbildung 3.2: Mittelung ( $n=6$ ) verschiedener Kontusionsverläufe. Dargestellt ist nur das gespreitzte Induktionssignal des Kontusionsstoßes (Intervall von A nach B), dieses entspricht dem ersten Peak aus dem Diagramm 3.1, die Rückholbewegung ist nicht dargestellt.

Mit Hilfe der diskreten Ableitungen des Weg-Zeit-Diagramms bzw. des Differentialquotienten lassen sich Geschwindigkeit und Beschleunigung des Bolzens bestimmen (Abbildung 3.3).

Für die korrekte Interpretation dieser Diagramme muß berücksichtigt werden, daß die Summe des auf- und abstreichenden Astes entsprechend der Induktionsänderung dem Gesamtweg des Bolzens entspricht. Die (Aufprall)geschwindigkeit  $v_{max}$  läßt sich aus dem letzten Abschnitt des Weg(s)-Zeit(t)-Diagramms numerisch mittels

$$v_i = \frac{s_{i+1} - s_{i-1}}{2dt} \quad (3.1)$$

bzw.

$$v_i = \frac{s_{i-2} - 8s_{i-1} + 8s_{i+1} - s_{i+2}}{12dt} \quad (3.2)$$

bestimmen (Bronstein & Semendjajew, 1985), siehe Abbildung 3.4. Die numerische Differentiation ergab eine maximale Geschwindigkeit von  $v_{max} = 7.8 \pm 0.5$  m/s bzw.  $7.6 \pm 0.5$  m/s für beide Serien.

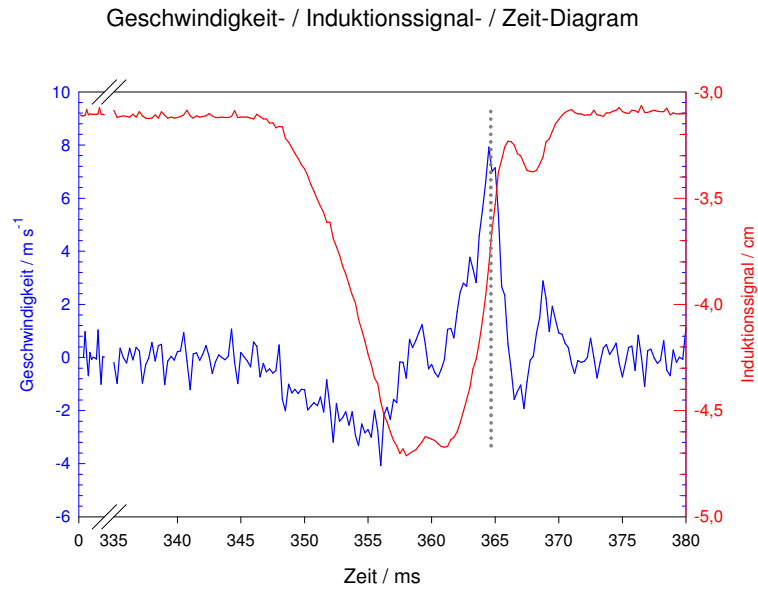


Abbildung 3.3: Geschwindigkeits- (blau) und Induktionssignal- (rot) Verlauf der Kontusion. Die Retraktion des Bolzens ist nicht dargestellt. Die graue Linie zeigt die Maximal-Geschwindigkeit  $v_{max}$  an.

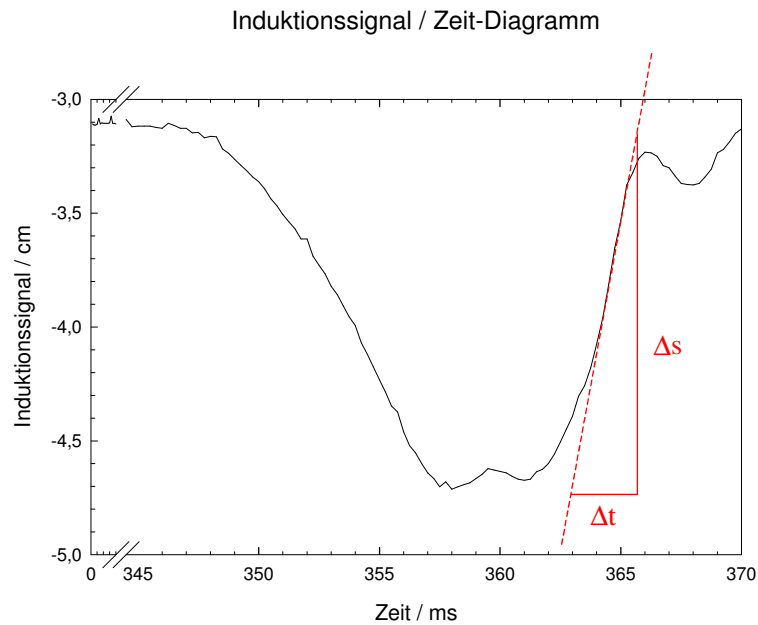


Abbildung 3.4: Bestimmung von  $v_{max}$  über Differentialquotienten.



## 3.2 Spulenauswahl

Die Auswahl einer geeigneten Spule orientierte sich an der Spulengüte, dem 'filling-factor' und an den mit der jeweiligen Spule erreichbaren Signal-zu-Rausch Verhältnissen. Die Abbildungen 3.5 - 3.8 zeigen die Frequenzspektren der untersuchten Spulen. Tabelle 3.1 fasst die aus den Frequenzspektren gemäß Gleichung 4.14 bzw. Abbildung 4.3 ermittelten Spulengüten zusammen.

Spulentyp	Spulengüte	
	belastet	unbelastet
50 mm $\varnothing$ –( $^1\text{H}$ , $^{31}\text{P}$ )–Doublere- sonance Crossover Surface Coil (Bruker, Karlsruhe)	66	76
50 mm $\varnothing$ –( $^1\text{H}$ )–Oberflächenspu- le (TFH-Spule)	134	209
195 mm $\varnothing$ –Bodycoil (Bruker, Karlsruhe)	135	136
65 mm $\varnothing$ –Bodycoil (UKBF- Spule)	120	176

Tabelle 3.1: Spulengüten der untersuchten Spulen im belasteten und nicht belasteten Zustand. Belastung mittels 100 ml NaCl-Fläschchen. Die Tripelresonanzspule wurde aufgrund der geringen Ausleuchtungstiefe nicht vermessen.

Die Abbildungen zeigen jeweils paarweise die Spulen im unbelasteten und belasteten Zustand. Als Spulenbelastung, die die Verhältnisse am Versuchstier simulieren sollte, wurde eine 100 ml Natrium-Chlorid-Flasche benutzt. Die Abbildungen zeigen die jeweils zu erwartende Verringerung der Spulengüte unter Belastung, sichtbar an der Verkürzung und Verbreiterung der Resonanzpeaks.

Die Auswertungen von Phantommessungen zeigten ein um 20 % höheres SNR der TFH-Spule gegenüber der Bruker-Spule. Die Oberflächenspulen waren darüberhinaus aufgrund ihrer Geometrie den Ganzkörperspulen überlegen.

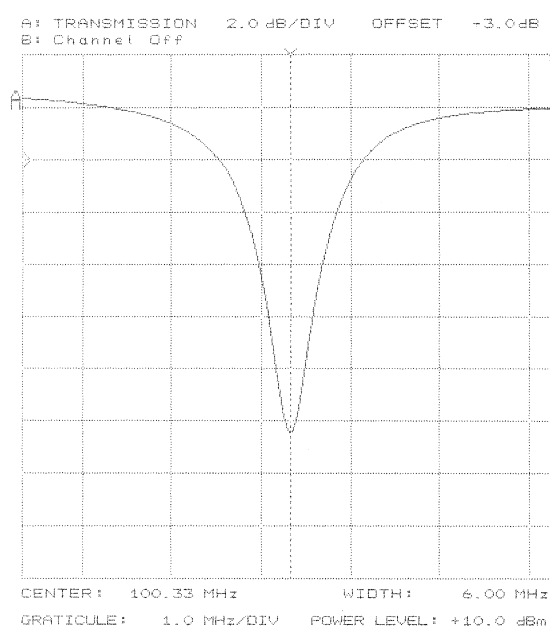
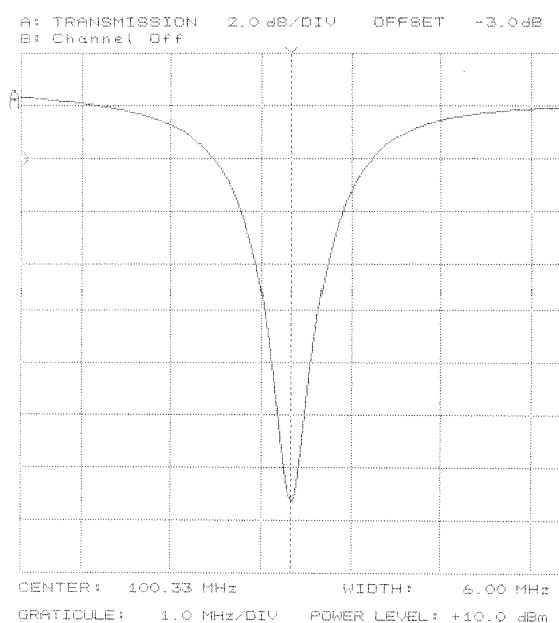


Abbildung 3.5: 50 mm  $\varnothing$   $-(^1\text{H}, ^{31}\text{P})$ -Doubleresonance Crossover Surface Coil (Bruker), im unbelasteten Zustand (links) sowie nach Belastung mit 100 ml NaCl-Lösung (rechts). Unter Belastung zeigte sich die Verkürzung und Verbreiterung des Resonanzpeaks im Vergleich zur nichtbelasteten Situation, was einen Abfall der Spulengüte von 76 auf 66 bewirkt. Dämpfung 2.0 dB/div; Frequenzweite: 6.0 MHz.

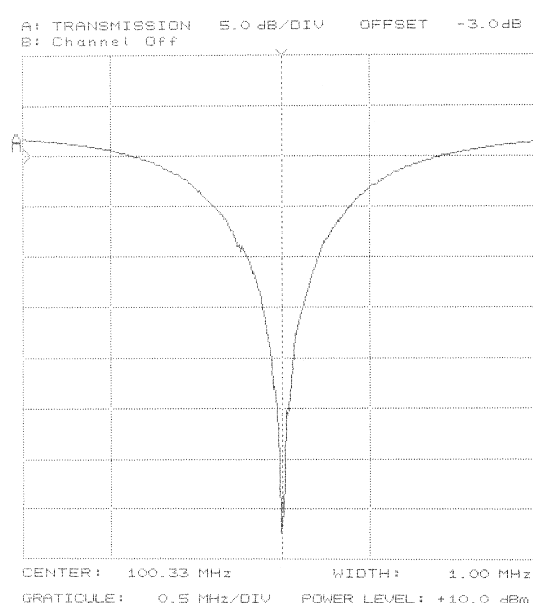
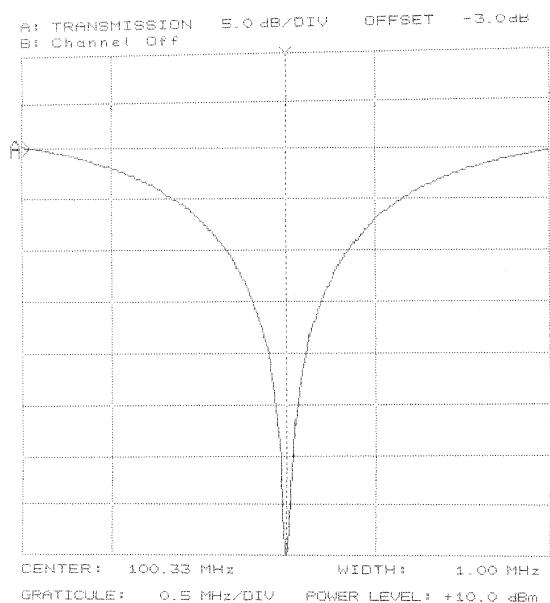


Abbildung 3.6: 50 mm  $\varnothing$   $-(^1\text{H})$ -Oberflächenspule (TFH), im unbelasteten Zustand (links) sowie nach Belastung mit 100 ml NaCl-Lösung (rechts). Unter Belastung zeigte sich die Verkürzung und Verbreiterung des Resonanzpeaks im Vergleich zur nichtbelasteten Situation, was einen Abfall der Spulengüte von 209 auf 134 bewirkt. Dämpfung 5.0 dB/div; Frequenzweite: 1.0 MHz.

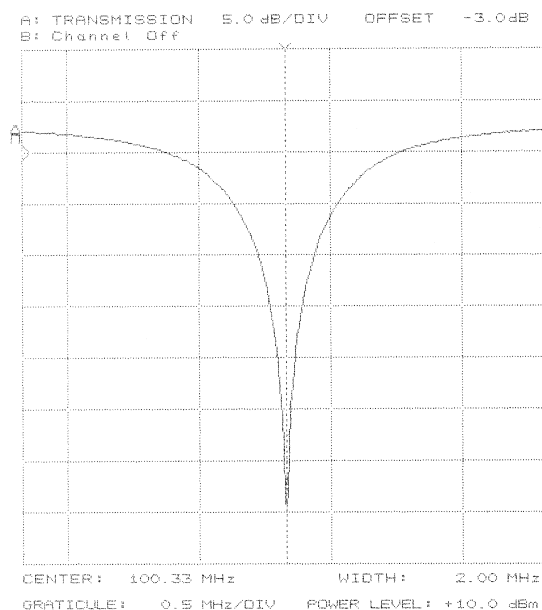
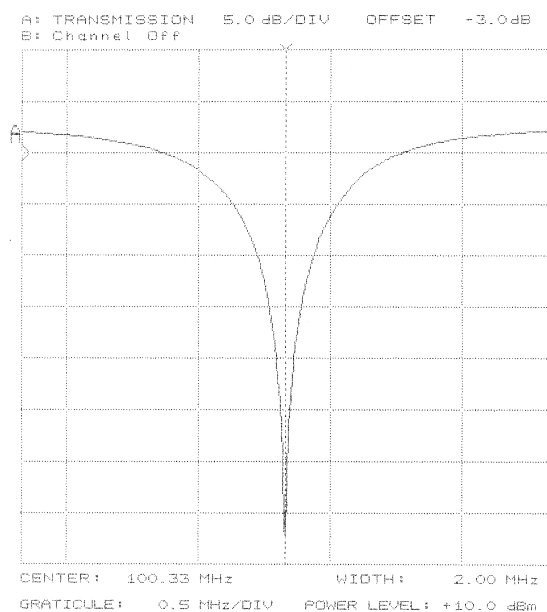


Abbildung 3.7: 195 mm  $\varnothing$  –Bodycoil (Bruker), im unbelasteten Zustand (links) sowie nach Belastung mit 100 ml NaCl-Lösung (rechts). Unter Belastung zeigte sich aufgrund relativ zur Spulengröße geringen Belastung kein signifikanter Abfall der Spulengüte (von 136 auf 135). Bei im Vergleich zur TFH-Oberflächenspule ähnlich hoher Spulengüte zeigte sich jedoch aufgrund der geometrischen Parameter eine geringere Bildqualität. Dämpfung 5.0 dB/div; Frequenzweite: 2.0 MHz.

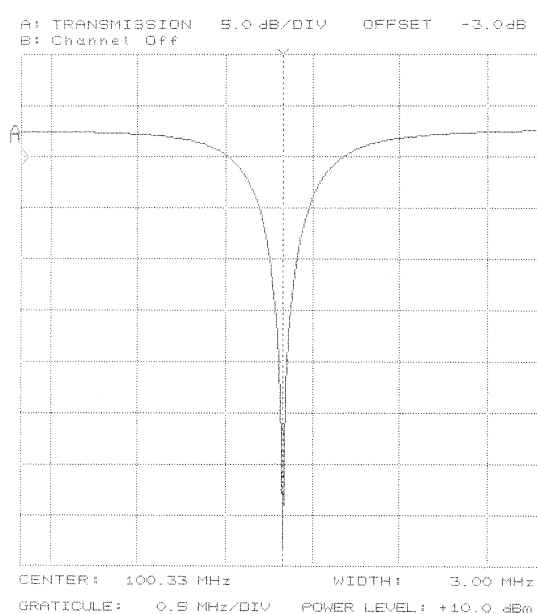
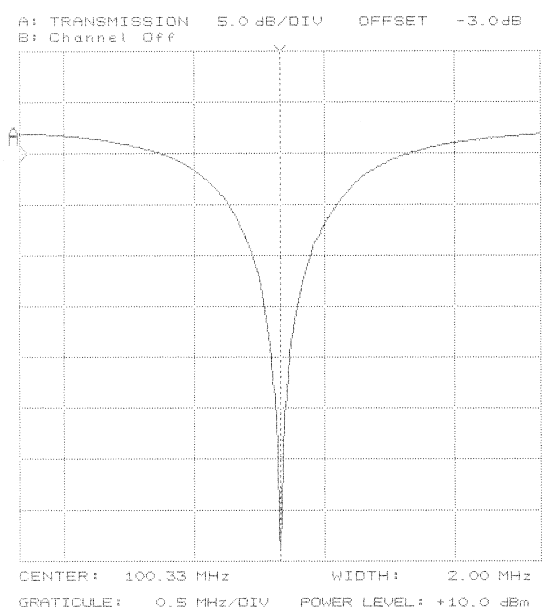


Abbildung 3.8: 65 mm  $\varnothing$  –Bodycoil (UKBF), im unbelasteten Zustand (links) sowie nach Belastung mit 100 ml NaCl-Lösung (rechts). Unter Belastung zeigte sich die Verkürzung und Verbreiterung des Resonanzpeaks im Vergleich zur nichtbelasteten Situation, was einen Abfall der Spulengüte von 176 auf 120 bewirkt. Dämpfung 5.0 dB/div; Frequenzweite: 2.0 MHz (links), 3.0 MHz (rechts).

Für die Oberflächenspulen ist neben dem SNR aber noch die sogenannte Penetrationstiefe, d. h. das Ausleuchtungsprofil der Spule wichtig. Das Signal fällt in Abhängigkeit von  $r$  als Spulenradius mit dem Abstand  $y$  von der Spulenebene gemäß Gleichung 3.3 ab (s. Abbildung 3.9).

$$B_i(y) = \frac{\mu_0 r^2}{2(r^2 + y^2)^{3/2}} \quad (3.3)$$

Die Penetrationstiefe wurde für die 50 mm  $\emptyset$   $-(^1\text{H}, ^{31}\text{P})$ -Doubleresonance Crossover Surface Coil und die 30 mm  $\emptyset$   $-(^1\text{H}, ^{31}\text{P}, ^{13}\text{C})$ -Tripleresonanz-Oberflächenspule anhand eines Y-Profiles ermittelt. Hierzu wurden mit beiden Spulen bei jeweils gleichen Meßparametern ein zur Spulenfläche orthogonales Bild eines Phantoms aufgenommen. Mit einer Software-Routine wurden die Intensitäten jeweils zeilenweise aufaddiert und über der maximalen Zeilensummenintensität normiert. Die so erstellten Profile sind in Abb. 3.9 dargestellt.

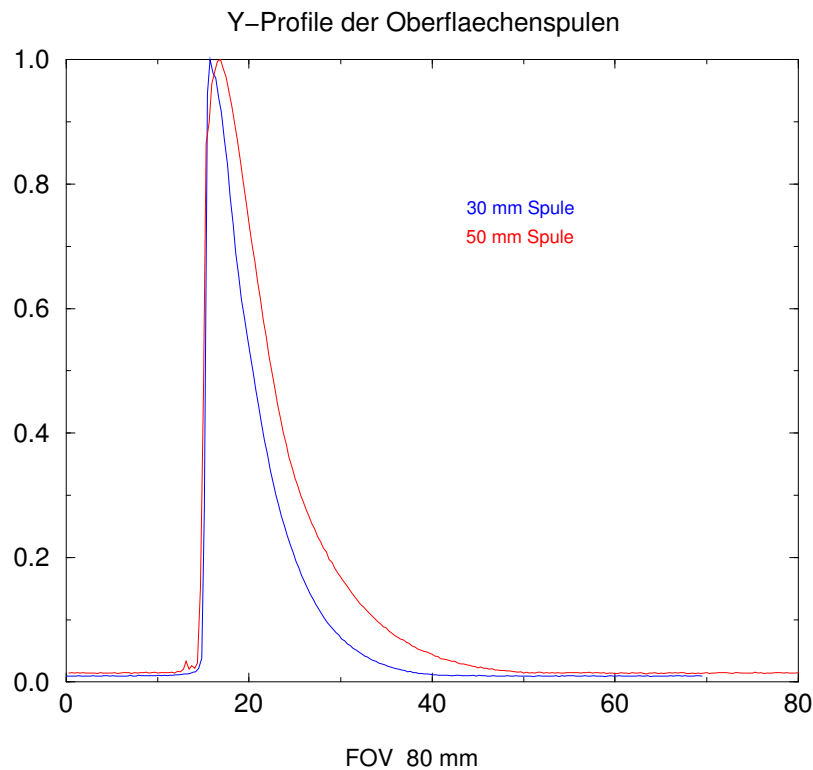


Abbildung 3.9: Vergleich der Ausleuchtungstiefen der 50 mm  $\emptyset$   $-(^1\text{H}, ^{31}\text{P})$  Doubleresonance Crossover Surface Coil mit der 30 mm  $\emptyset$   $-(^1\text{H}, ^{31}\text{P}, ^{13}\text{C})$ -Tripleresonanz Coil anhand von Y-Profilen. Gemessen wurde die Ausleuchtungstiefe beider Spulen in einem 100 ml Fläschen NaCl-Lösung in der senkrecht zur Spulenebene gemessenen Richtung (Y-Profil). Wiedergegeben sind relative, auf 1 genormte Intensitäten. Die Abbildung zeigt die nur relativ geringe Tiefenausleuchtung der 30 mm Spule. (Hinsichtlich der daraus resultierenden Schwierigkeiten einer 2 dimensional Clusteranalyse siehe Abschnitt 4.2.1.)

### 3.3 Sequenzparametrisierung

#### 3.3.1 Diffusionswichtung

Neben der apparativ auf maximal 50 mT/m limitierten Gradientenstärke  $g_d$  gehen die Dauer  $\delta$ , über die die diffusionswichtenden Gradienten einwirken, sowie der Zeitabstand  $\Delta$  zwischen diesen Gradienten in die Diffusionswichtung  $b_i$  ein, entsprechend der Stejskal-Tanner Sequenz (Stejskal & Tanner, 1965), Gleichung 3.4, bzw. Abbildung 3.10.

$$b_{d,x} = \gamma^2 g_d^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) \quad (3.4)$$

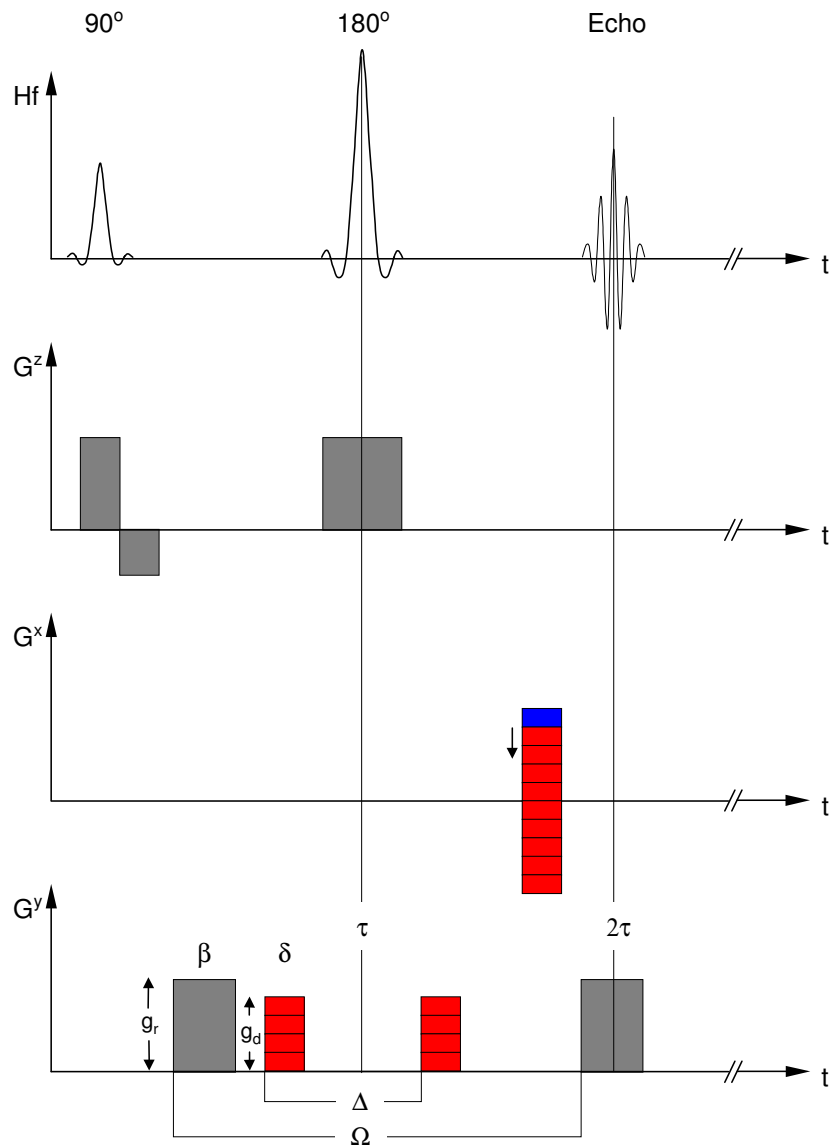


Abbildung 3.10: Spin-Echo Diffusions-Sequenzschema

Durch Variation von  $g_d$ ,  $\Delta$  und  $\delta$  (Abbildung 3.11) kann die Diffusionswichtung bei gleichzeitig kürzestmöglicher Zeit TE optimiert werden.

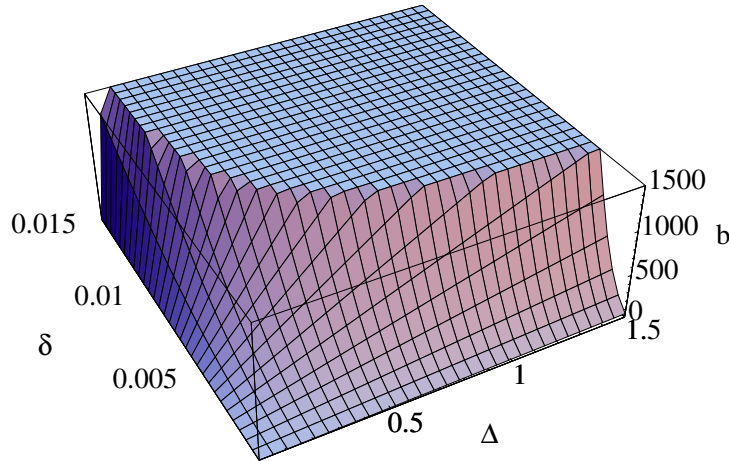


Abbildung 3.11: Abhängigkeit des b-Faktors ( $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$ ) von der Diffusionsgradientenseparation  $\Delta$  [s] und Diffusionsgradientenlänge  $\delta$  [s]

### Crosstalk

Im Rahmen der Sequenzparametrisierung der diffusionswichtigen Messungen wurden eine Reihe von Kontrollmessungen an verschiedenen Lösungsmitteln (Wasser, Methanol, Ethanol, Propanol und Benzol) durchgeführt. Die Messungen erfolgten mit der SE-Diffusionssequenz mit den Parametern aus Tabelle 2.7 unter Anpassung der Gradientenstärken gemäß Tabelle 3.2.

Diffusionsgradienten			
$g_{d0}$	0,0 mT/m	$b_0$	0 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d1}$	11,7 mT/m	$b_1$	17 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d2}$	33,2 mT/m	$b_2$	97 s/mm <sup>-2</sup>
$g_{d3}$	47,7 mT/m	$b_3$	190 s/mm <sup>-2</sup>

Tabelle 3.2: Diffusionsgradienten der Kontrollmessungen,  $g_d$  beschreibt die Gradientenstärke.

Aus diesen Bildsequenzen wurden apparente Diffusionskoeffizienten der einzelnen Lösungsmittel bestimmt. Im Vergleich zu den in der Literatur publizierten Diffusionskoeffizienten zeigten diese jedoch eine systematische Abweichung hin zu zu geringen Meßwerten. Ursache war die fehlende Linearität, wie sie die logarithmischen Darstellung des Intensitätsverlaufes in Abhängigkeit der Gradientenwichtungen deutlich macht (Abbildung 3.12).

Diese Abweichungen können durch den bei kleinem Field of View zunehmenden Read-Gradienten und einen sogenannten 'cross-term', der die Wechselwirkungen der Gradienten untereinander beschreibt, (Neeman *et al.*, 1990; Le Bihan & Turner, 1986) erklärt werden. Diese tragen damit einen nicht vernachlässigbaren Anteil zur Diffusionswichtung bei und bedingen somit eine verringerte Intensität. Der effektiv wirkende  $b_{\text{eff}}$ -Term setzt sich somit aus dem Readgradienten  $b_{r,x}$ , dem Diffusionsgradienten  $b_{d,x}$  und dem 'cross-term',  $b_{ct}$  gemäß

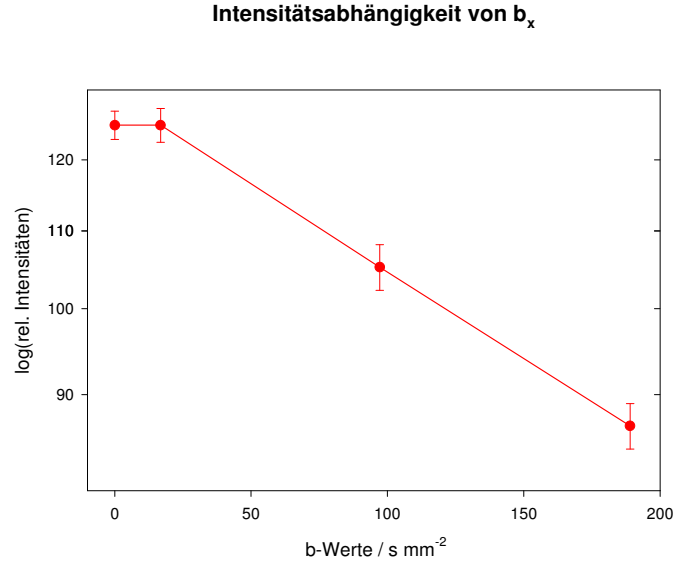


Abbildung 3.12: Einfluß des Readgradienten auf den Intensitätsverlauf

$$b_{eff} = b_{r,x} + b_{d,x} + b_{ct,x} \quad (3.5)$$

zusammen, mit

$$\begin{aligned} b_{r,x} &= \gamma^2 g_r^2 \beta^2 (\Omega - \beta/3) \\ b_{d,x} &= \gamma^2 g_d^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) \\ b_{ct,x} &= \gamma^2 g_d g_r 2\beta\delta\Delta \end{aligned} \quad (3.6)$$

Hierbei beschreiben  $\gamma$  die gyromagnetische Konstante,  $g_r$ ,  $g_d$  die Read- bzw. Diffusionsgradientenstärke,  $\beta$  und  $\delta$  die Read- bzw. Diffusionsgradientendauer und  $\Omega$ ,  $\Delta$  die Read- bzw. Diffusionsgradientenseparationszeit.

Nach Korrektur dieser Terme und Auslassung des Gradienten  $b_0 = 0$  ergab sich eine gute Übereinstimmung mit den Literaturdaten (Abbildung 3.13, Tabelle 3.3). Den Literaturwerten, auf der Abszisse aufgetragen, sind jeweils die aus den Messungen berechneten ADC-Werte (Ordinate) zugeordnet, sowie die ADC-Werte, die sich nach Korrektur unter Beibehaltung des  $b_0$ -Wertes sowie nach Elimination des  $b_0$ -Wertes ergeben.

Substanz	Literatur 1	Literatur 2	Meßwert, korr	Meßwert, nicht korr.
H <sub>2</sub> O	2.13	n. a.	$2.17 \pm 0.01$	$2.62 \pm 0.01$
Methanol	2.32	2.22	$2.25 \pm 0.03$	$2.50 \pm 0.03$
Ethanol	1.05	1.01	$0.98 \pm 0.01$	$0.96 \pm 0.01$
Propanol	0.65	n. a.	$0.60 \pm 0.01$	$0.53 \pm 0.01$
Benzol	2.16	2.17	$2.27 \pm 0.02$	$2.44 \pm 0.02$

Tabelle 3.3: Literaturwerte der Diffusionskoeffizienten zu den untersuchten Lösungsmitteln. Einheit:  $10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Literatur aus [Andrussow, 1969](#). (n.a. nicht angegeben).

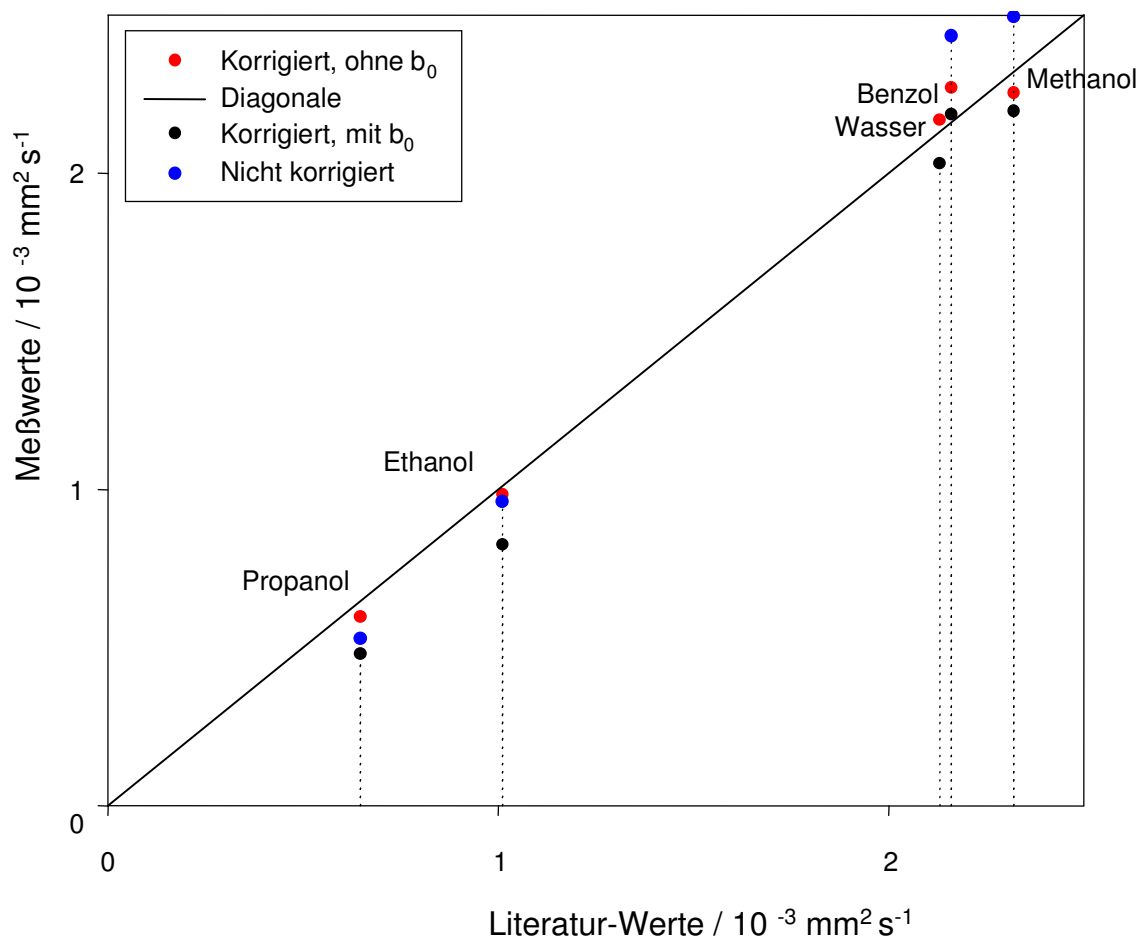


Abbildung 3.13: Vergleich der nicht-korrigierten Diffusionskoeffizienten (blau) mit denen nach 'cross-term'-Korrektur (schwarz), sowie den unter Elimination des  $b_0$ -Wertes (rot) mit Literaturdaten (Diagonale). Temperatur: 25°C.



## Temperaturabhängigkeit

Aufgrund der Temperaturabhängigkeit der Diffusionskonstante gemäß Gleichung 3.7

$$D = D^{\infty} e^{(-E_a/kT)} \quad (3.7)$$

wurde zur Kontrolle der Reliabilität der Messungen die Temperaturabhängigkeit im Experiment an Messungen eines unterschiedlich stark temperierten Wasserphantoms überprüft. Abbildung 3.14 vergleicht die Ergebnisse mit Literaturdaten. Diese Daten weisen - neben dem Ziel, die physiologischen Parameter der Tiere im Normbereich zu erhalten - auf die Notwendigkeit einer entsprechenden Temperierung des Tieres während der diffusionsgewichteten Messungen hin.

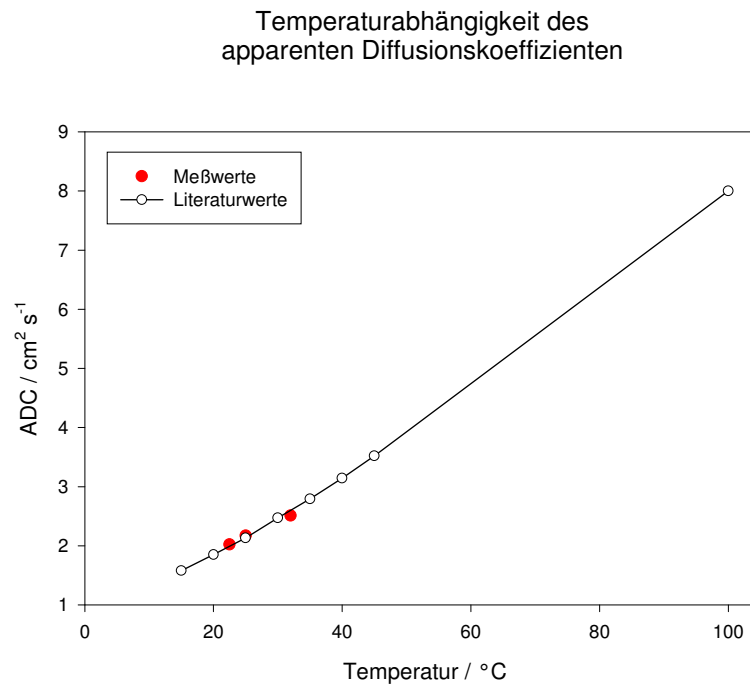


Abbildung 3.14: Temperaturabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten. Literatur: [Andrusow, 1969](#)

### 3.3.2 ADC-Änderung nach MCAO

Kortikale ADC-Veränderungen sind im Infarktmodell der Ratte in zahlreichen Experimenten gut untersucht ([Mintorovitch et al., 1991](#)). Um die im weiteren am Traumamodell erhobenen Daten hinsichtlich ihrer Validität zu überprüfen, wurden daher Vergleichsmessungen am Modell der Okklusion der *Arteria cerebri media* der Ratte durchgeführt. Tabelle 3.4 zeigt Vergleichsdaten 6 Stunden nach Infarktinduktion. Ein definierter 'Normwertbereich' für Cortexareale der Ratte findet sich in der Literatur jedoch nicht. [Hoehn-Berlage, 1995](#) beispielsweise nennt einen Wert von  $675 \pm 53 \cdot 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$ .

Apparenter Diffusionskoeffizient / $10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$		
	Experiment	Literatur
Graue Substanz	$789 \pm 50$	$751 \pm 77$
Infarktareal	$556 \pm 95$	Kern: $332 \pm 22$
		Peripherie: $604 \pm 103$

Tabelle 3.4: ADC-Änderungen 6 h nach dem im MCAO-Modell induzierten Infarkt in der Ratte (n=2). Daneben im Vergleich Literaturdaten: Pierpaoli *et al.* 1993

## 3.4 Anatomischer Überblick

Die auf den folgenden Seiten dargestellten Untersuchungen geben einen orientierenden Überblick über die Normalanatomie des Rattenhirns. Diese waren Grundlage für die Interpretation der durch die Kontusion z. T. erheblich veränderten anatomischen Verhältnisse. So war die Darstellung des Ventrikelsystems notwendig, um die durch Ödemausdehnung und Zystenbildung bedingten Veränderungen klar abgrenzen zu können. Desweiteren war der Markfaser-Verlauf und die Darstellung von Stammganglienarealen hilfreich, um die ADC-Änderungen im Trauma beschreiben zu können. Aufgrund der Limitierungen der Schichtpositionierung in der diffusionswichtenden TOMIKON-Software (s. Abschnitt 2.6.5) waren die Orientierung anhand der transversalen Darstellungen notwendig für die exakte Repositionierung der Tiere im Zeitverlauf.

Den am Bruker Biospec gewonnenen, koronaren, T2-gewichteten MRT-Aufnahmen ist jeweils ein repräsentativer, aufsichtphotographischer,  $40 \mu\text{m}$  dicker histologischer Schnitt gegenübergestellt. Diese sind dem 'Stereotactical Atlas of the Rat Brain' (Pellegrino *et al.*, 1979) entnommen, in dem sie in der Myelinfaserfärbung Luxol 'fast blue' dargestellt sind, gegengefärbt mit Neutral-Rot.

Die MRT-Aufnahmen wurden hochaufgelöst mit einer Schichtdicke von 1.2 mm und einer Matrix-Größe von  $256 \times 256$  akquiriert, was mit einem  $\text{FOV} = 42.5 \text{ mm}$  einer Pixellänge von  $166 \mu\text{m}$  entspricht. Die übrigen Akquisitionsparameter wurden entsprechend Tabelle 2.3 gewählt.

Bedingt durch die Partialvolumeneffekte der kernspintomographischen Bildgebung ist die Morphologie beider Darstellungen nicht exakt korrelierbar.

Abbildung 3.15 veranschaulicht für die Interpretation der im folgenden gezeigten MRT-Daten die Ventrikelausdehnung bei der Ratte. Die Seiten 43 – 47 zeigen die Gegenüberstellung koronarer histologischer und MRT-Schnitte.

### 3.4.1 Koronare Darstellung

Die Werte in Klammern geben die Schichtposition (in Millimeter) in Bezug auf das Bregma an. Posteriore Schichten werden negativ gezählt (modifiziertes System nach de Groot, 1959).

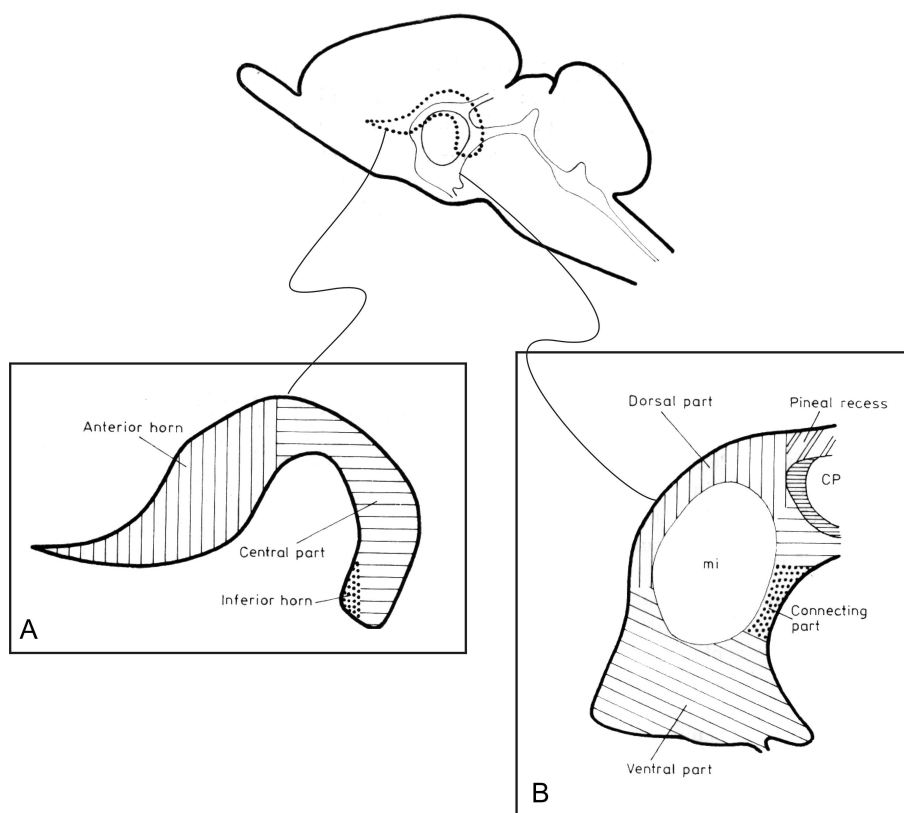


Abbildung 3.15: Schematische Darstellung des Ventrikelsystems in seitlicher Projektion. A: Seitenventrikel, B: Dritter Ventrikel mit zentraler Massa intermedia. (mi = massa intermedia, cp = commissura posterior)

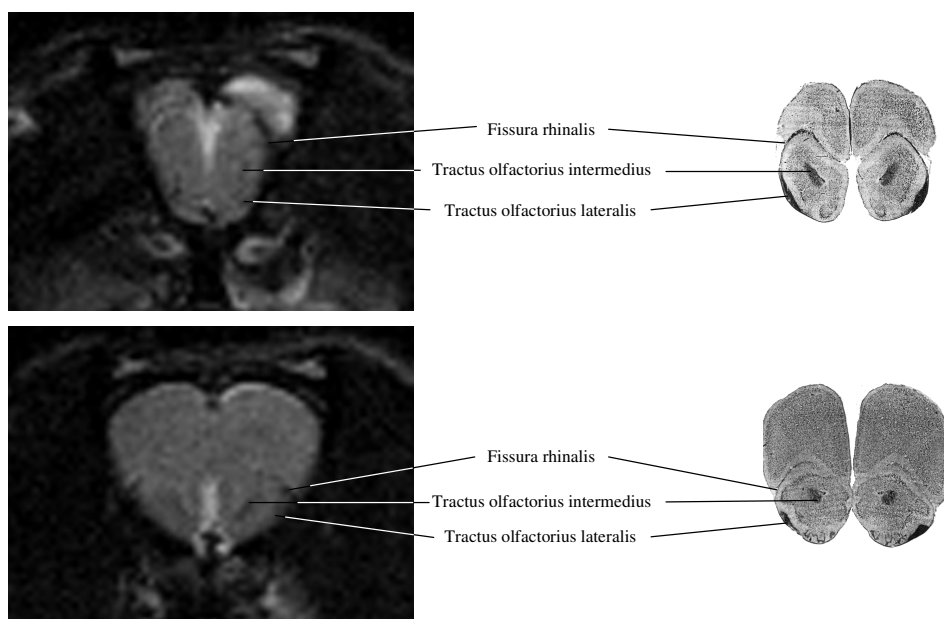


Abbildung 3.16: Koronare Darstellung (oben: 6.2; unten: 5.6).

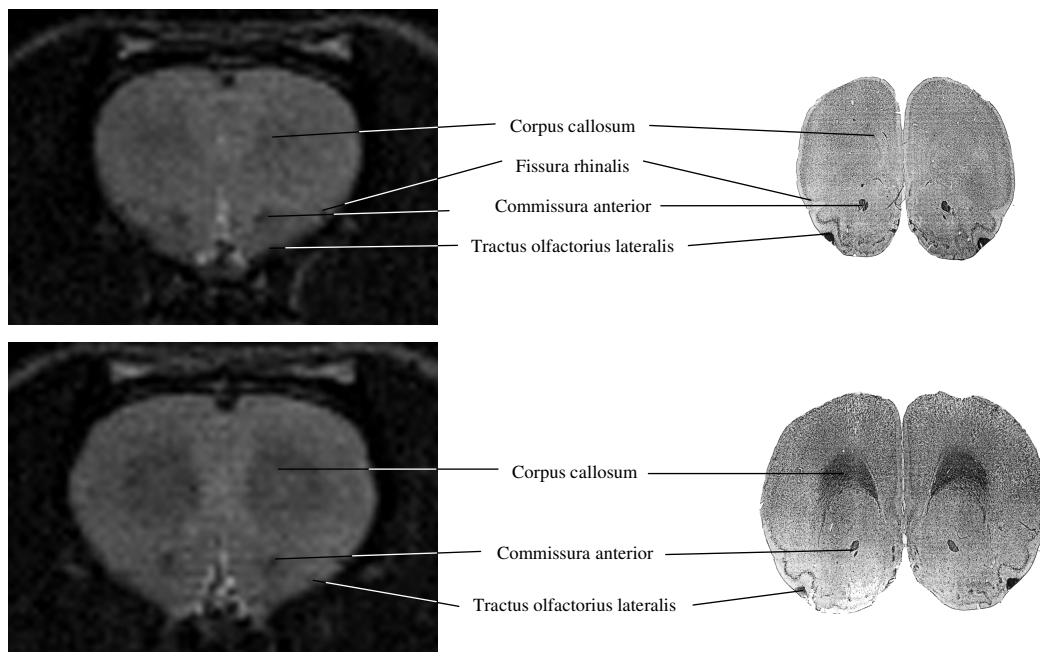


Abbildung 3.17: Koronare Darstellung (oben: 4.6 ; unten: 3.8).

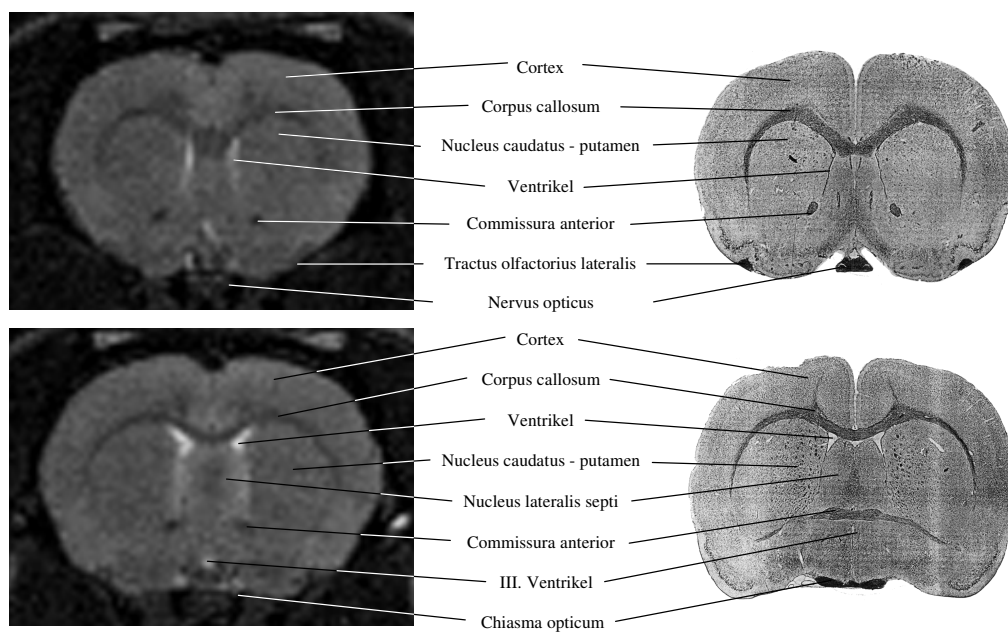


Abbildung 3.18: Koronare Darstellung (oben: 3.0 ; unten: 1.8).

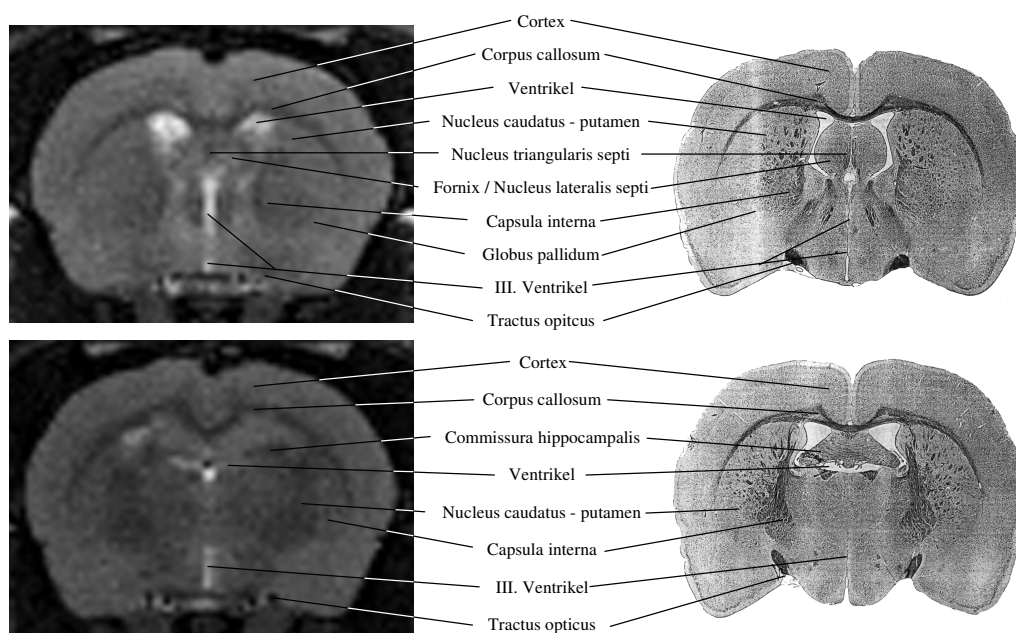


Abbildung 3.19: Koronare Darstellung (oben: 0.8 ; unten: 0.0).

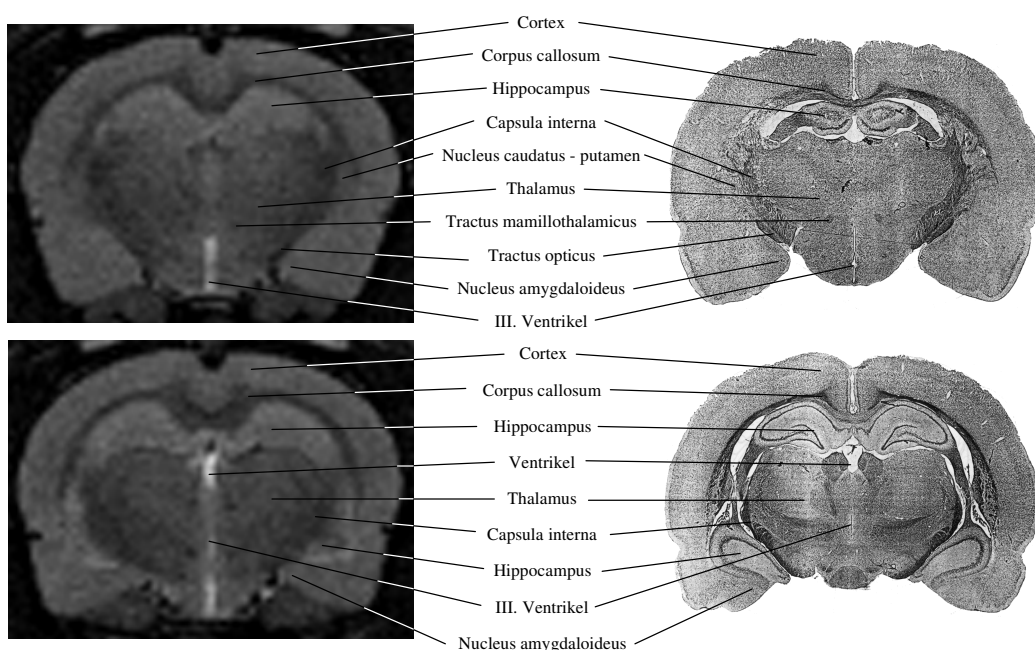


Abbildung 3.20: Koronare Darstellung (oben: -1.0 ; unten: -2.2).

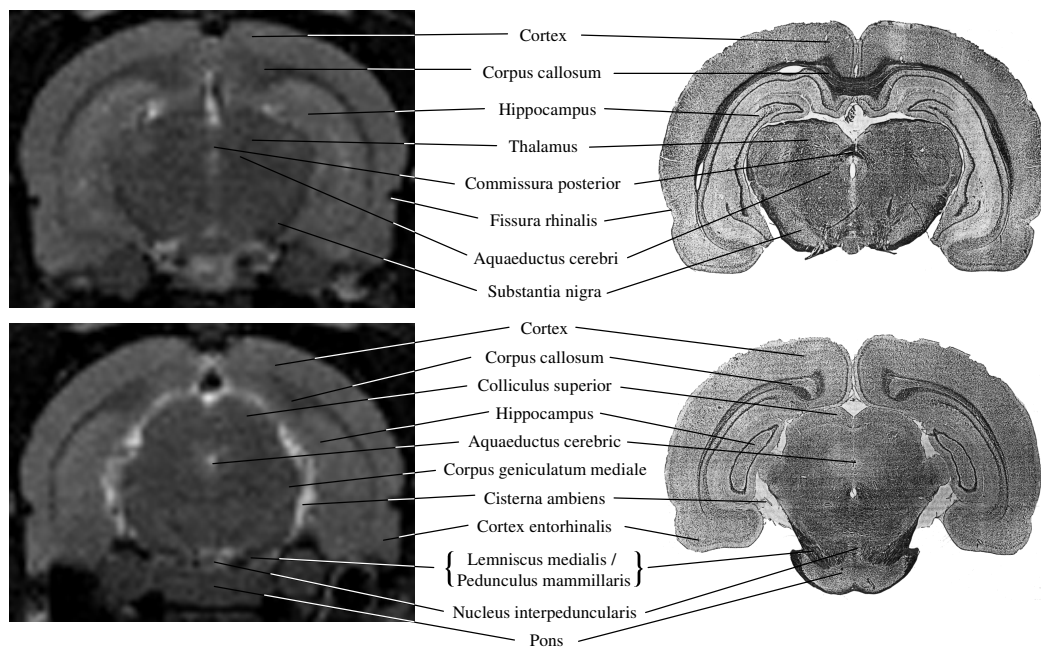


Abbildung 3.21: Koronare Darstellung (oben: -3.2 ; unten: -4.8).

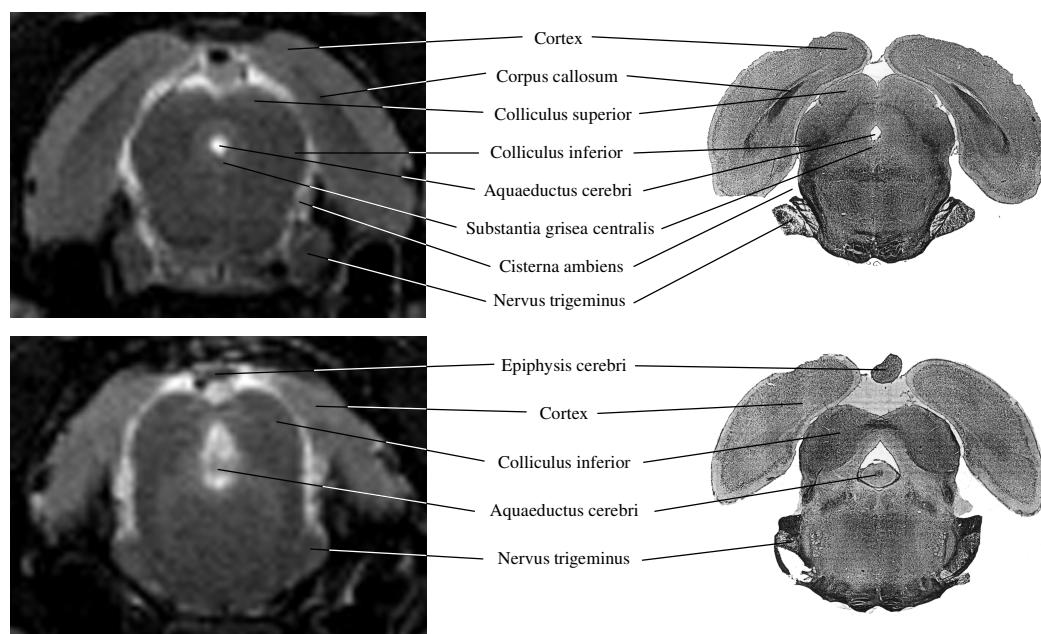


Abbildung 3.22: Koronare Darstellung (oben: -6.0 ; unten: -7.0).

### 3.4.2 Sagittale Darstellung

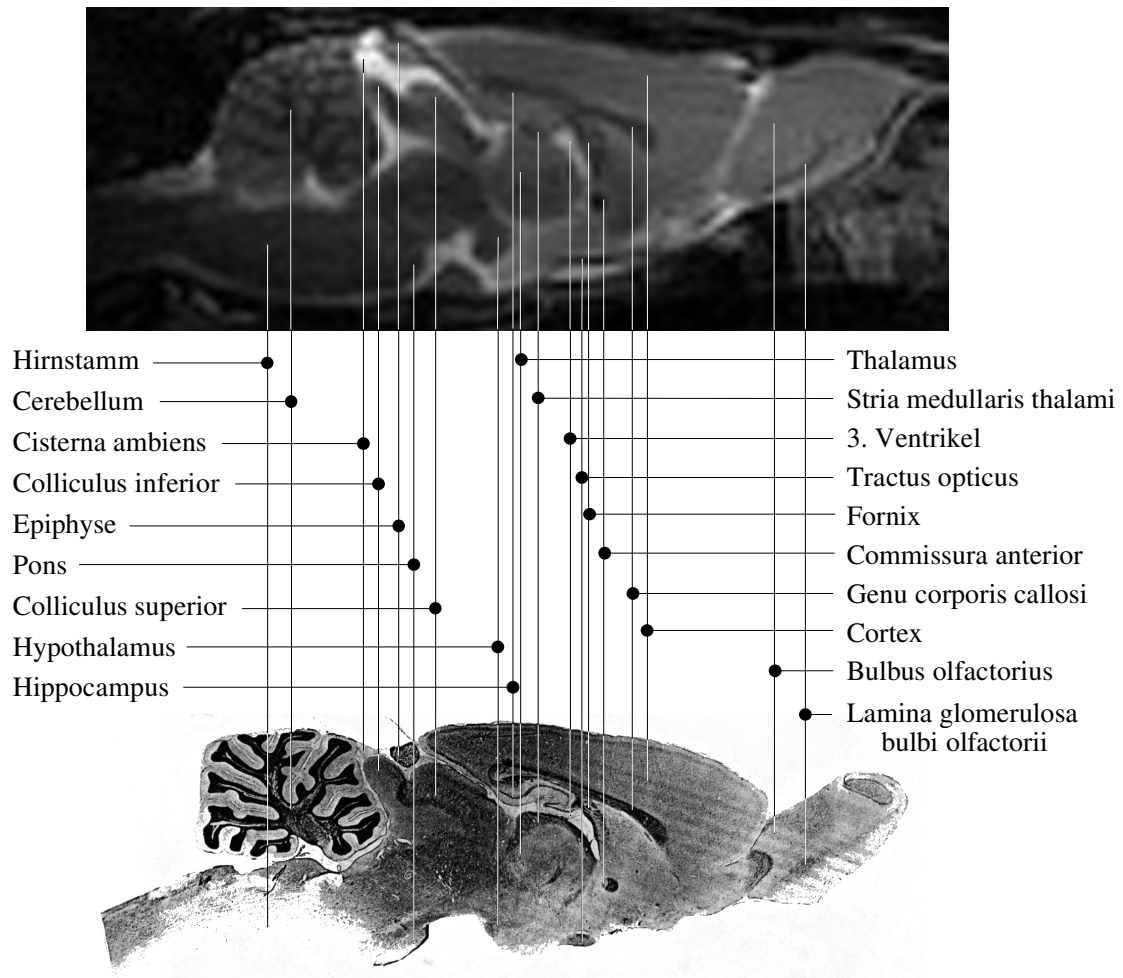


Abbildung 3.23: Mediane Schnittführung.

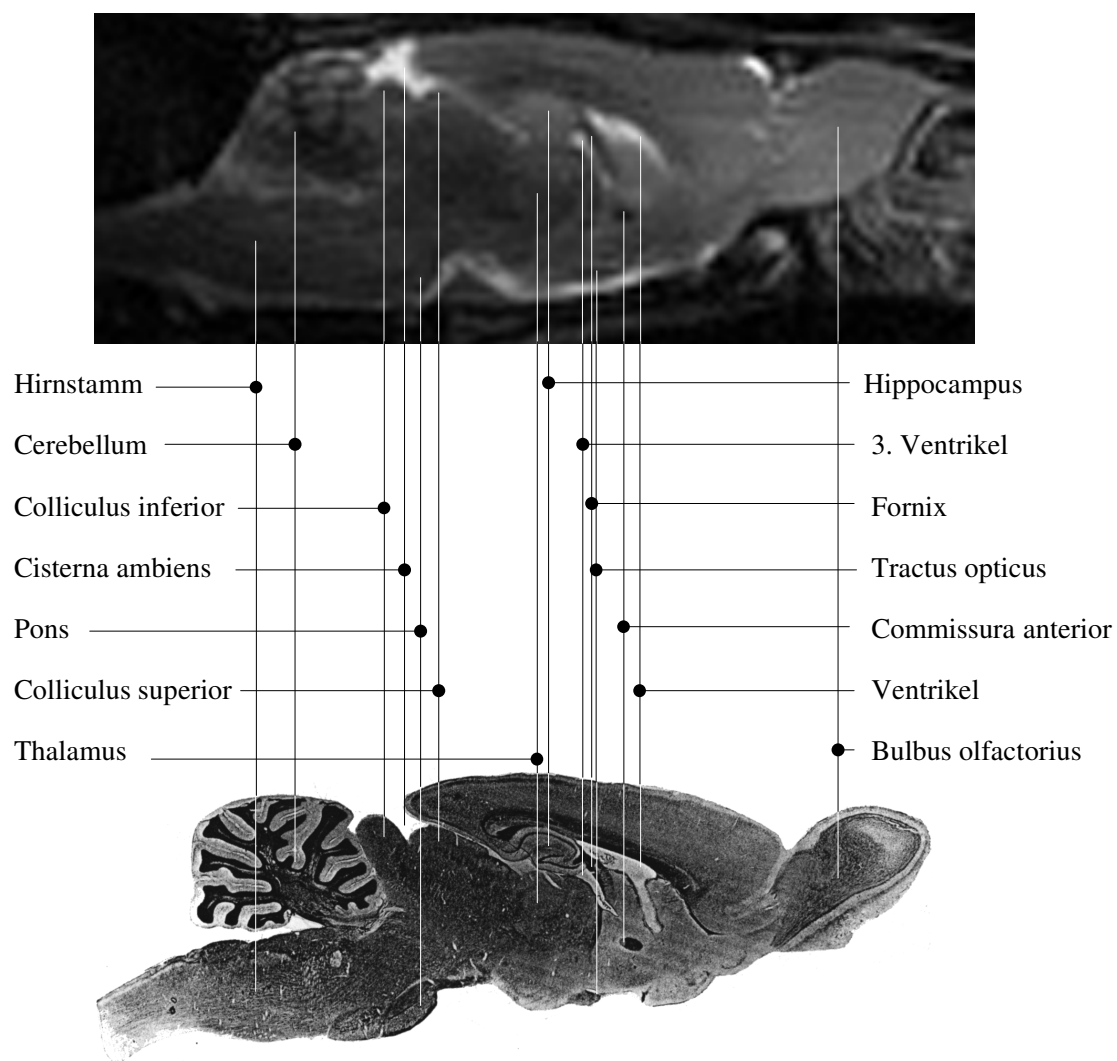


Abbildung 3.24: Parasagittale Schnittführung (1.3 mm).



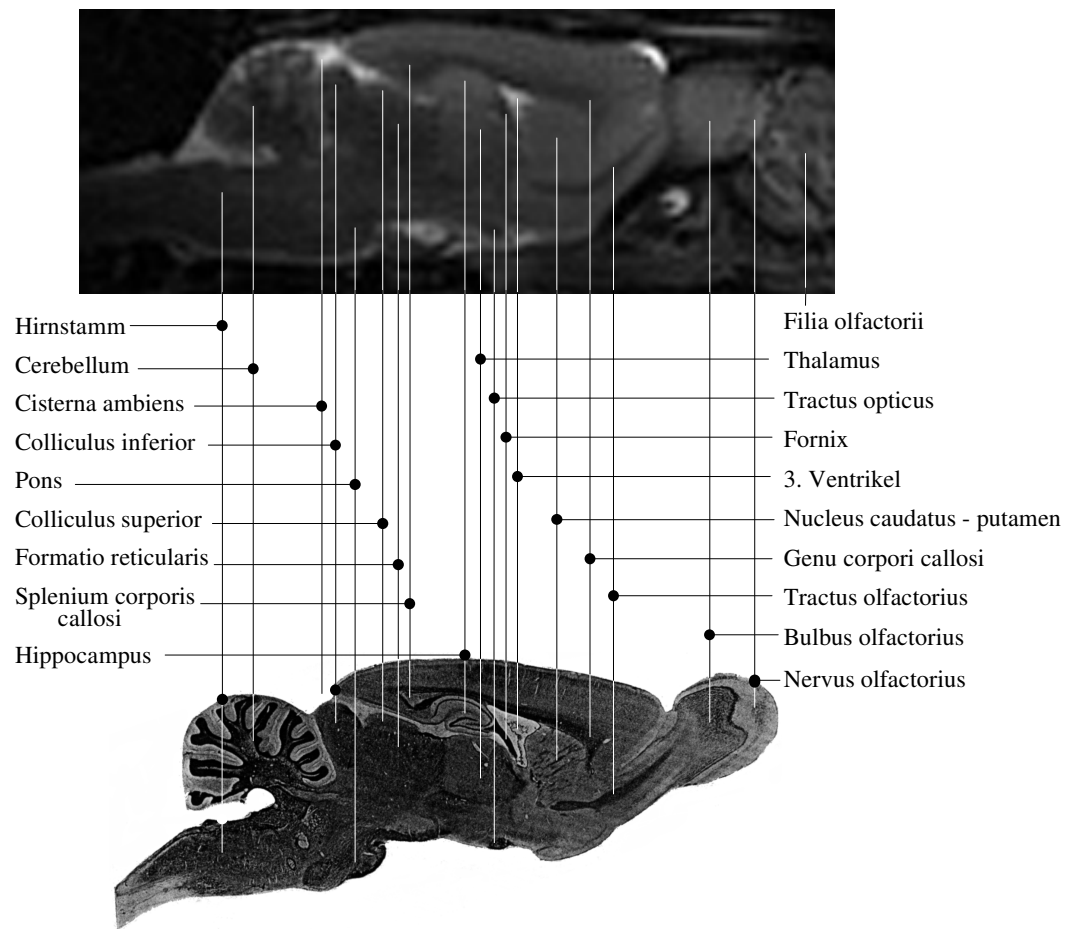


Abbildung 3.25: Parasagittale Schnittführung (1.9 mm).

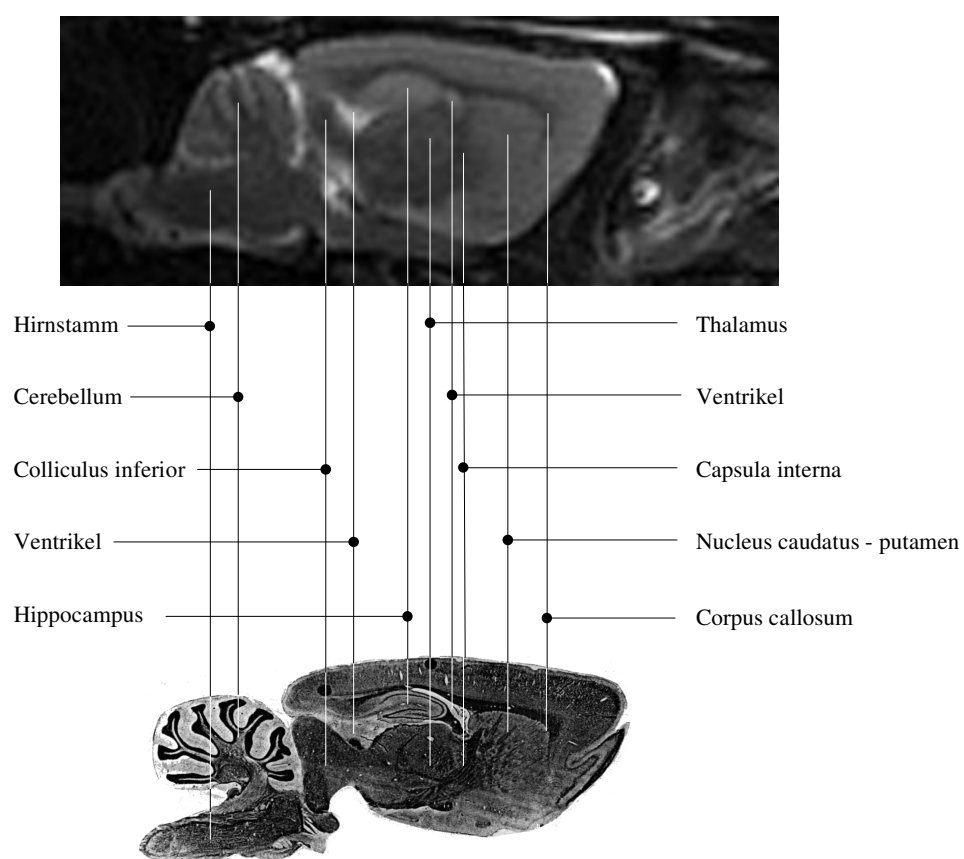


Abbildung 3.26: Parasagittale Schnittführung (2.9mm).

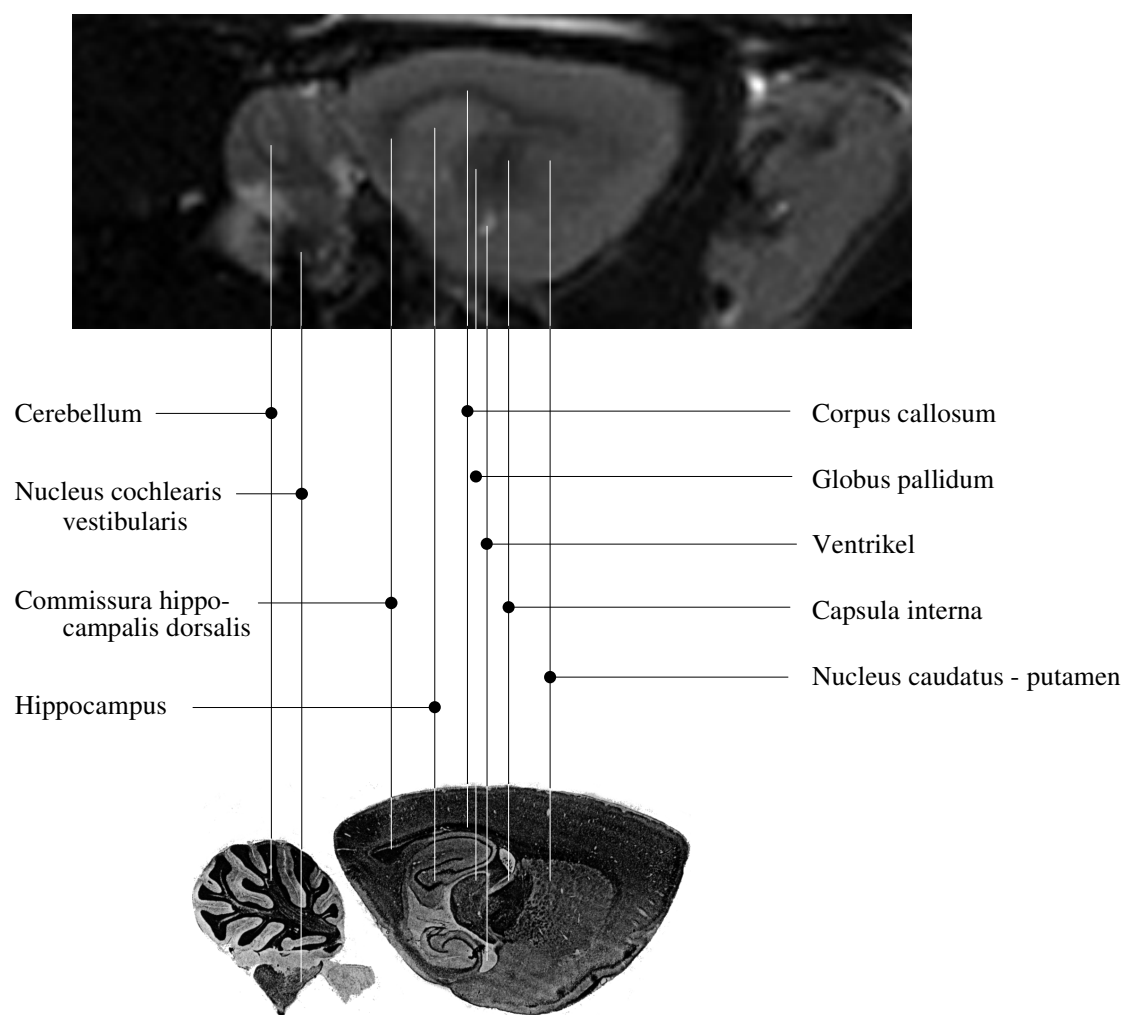


Abbildung 3.27: Parasagittale Schnittführung (4.3 mm).

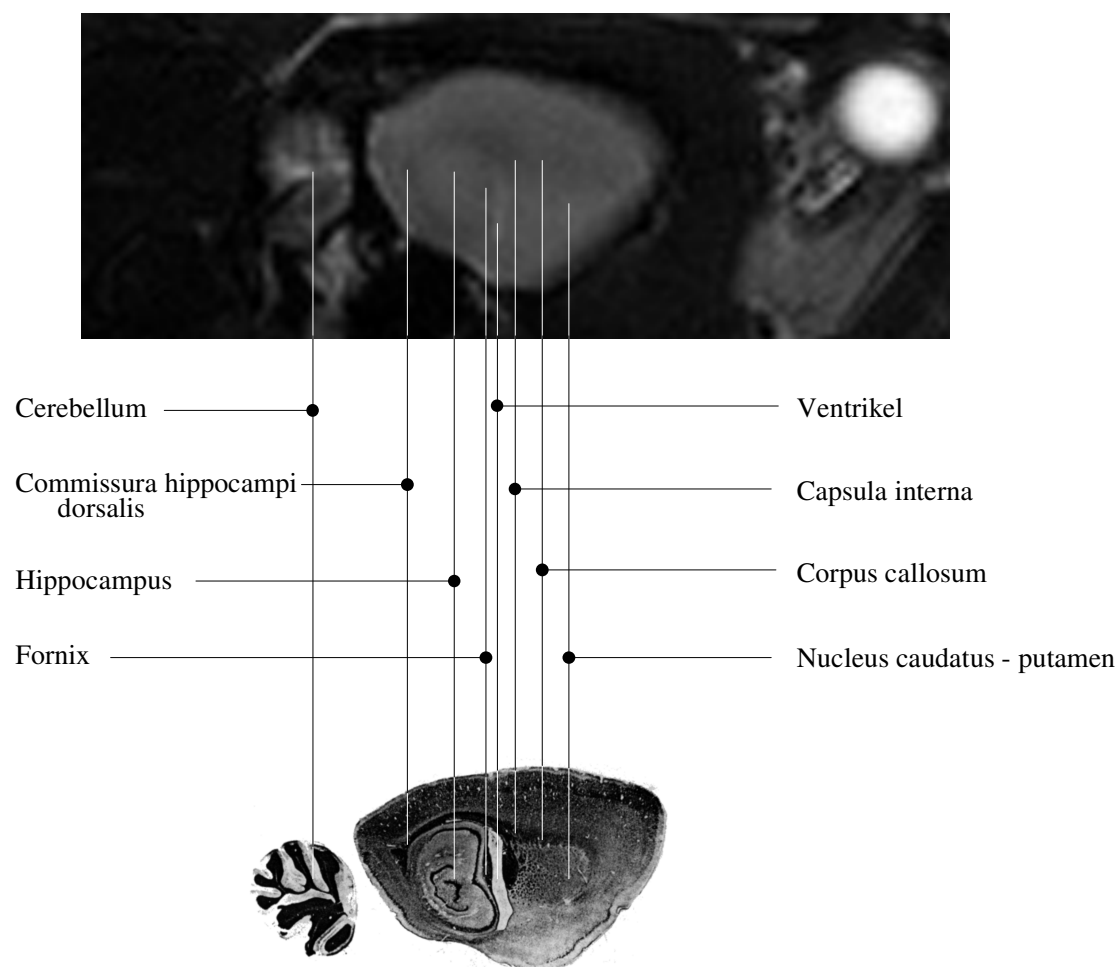


Abbildung 3.28: Parasagittale Schnittführung (5.1 mm).

### 3.4.3 Transversale Darstellung

Die transversalen Schichten sind ohne definiertes Koordinatensystem im 1.2 mm Abstand dargestellt.

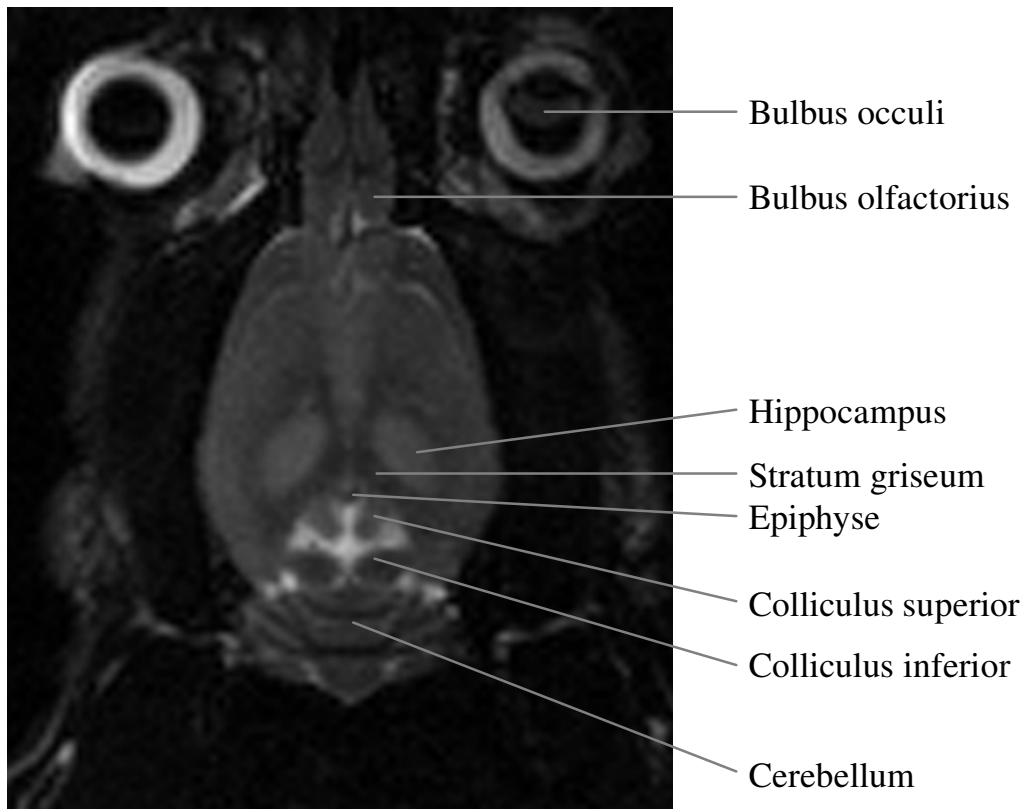


Abbildung 3.29: Transversale Schnittführung (0.0 mm).

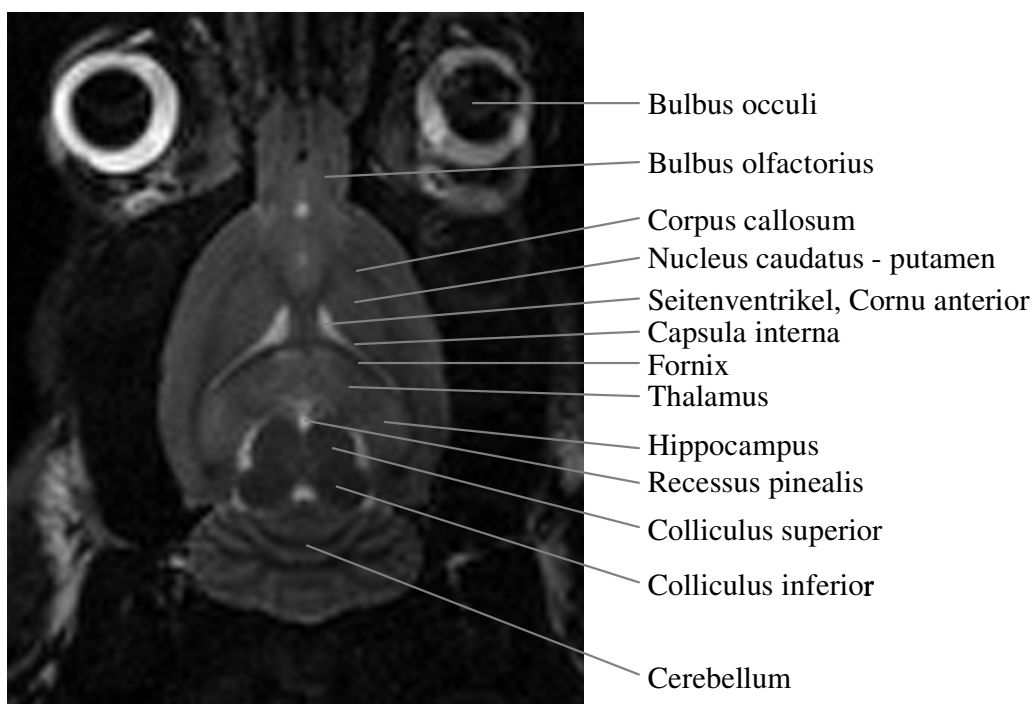


Abbildung 3.30: Transversale Schnittführung (1.2 mm).

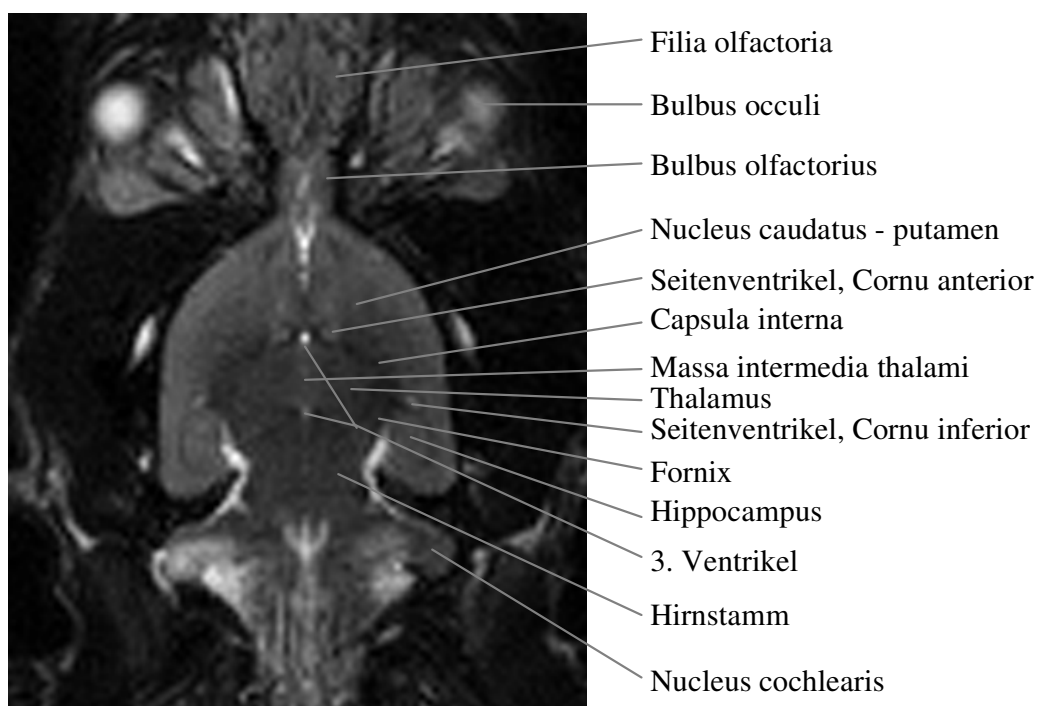


Abbildung 3.31: Transversale Schnittführung (2.4 mm).

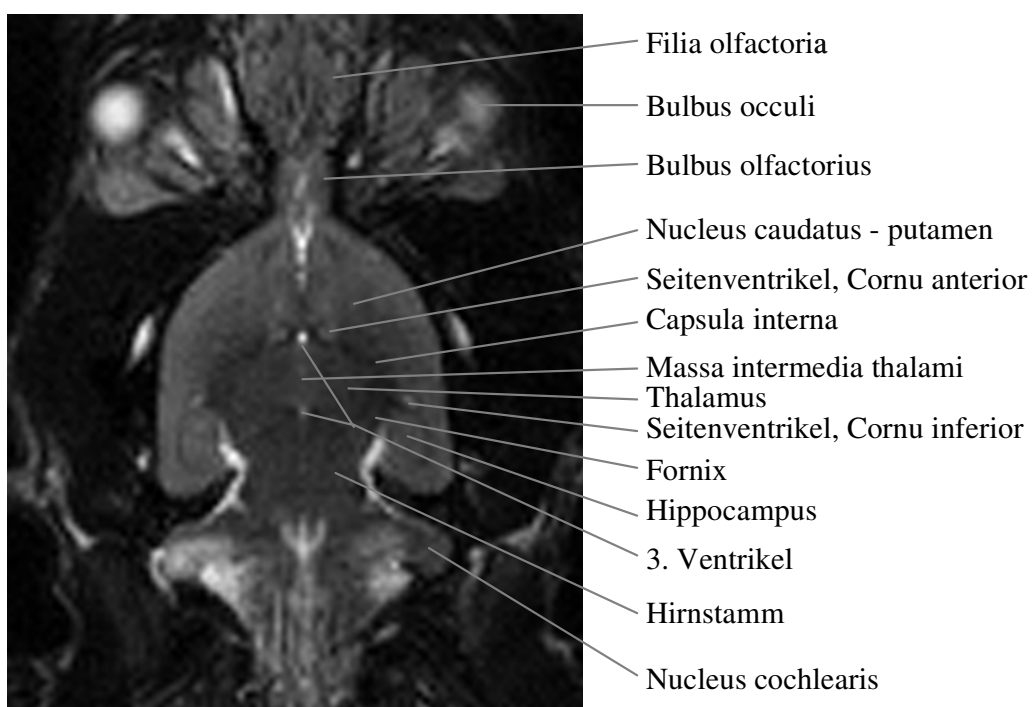


Abbildung 3.32: Transversale Schnittführung (3.6 mm).

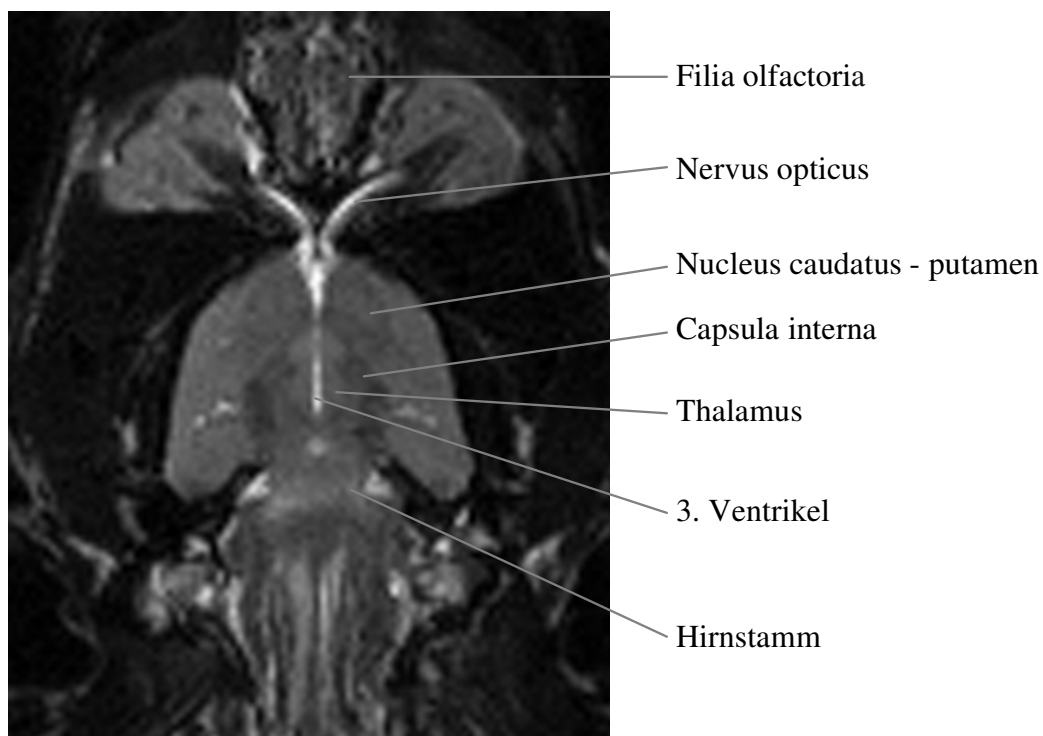


Abbildung 3.33: Transversale Schnittführung (4.8 mm).

### 3.5 Lubeluzol-Studie

Während der MRT-Untersuchungen in der Lubeluzol-Studie sind von den 18 Tieren drei Tiere aufgrund der Traumastärke verstorben (zwei Tiere der Verum-Gruppe, ein Tier der Plazebo-Gruppe). Die übrigen Tiere wurden zu den Zeitpunkten 90 Minuten, 6 und 24 Stunden kernspintomographisch untersucht. Anschließend erfolgte die Hirnentnahme.

Während die Kontusionsareale in der kernspintomographischen Bildgebung einer gewissen morphologischen Variabilität unterlagen, so sind die folgenden pathologischen Veränderungen mit weitgehender Regelmäßigkeit gesehen worden.

#### T2-gewichtete MRT-Bildgebung

In den T2-gewichteten koronaren Aufnahmen zeigte sich 90 Minuten nach Trauma im links parietalen Cortexareal ein leicht hyperintenses, unregelmäßig strukturiertes und nicht glattrandig begrenztes, raumforderndes Areal, das als Ödem interpretiert wurde. Der nach temporal reichende Randbereich, sowie die Mantelkantenregion, einschließlich des kontralateralen Mantelkantenareals erschienen hyperintens. Neben einer allenfalls diskreten Mittellinienverlagerung nach kontralateral fand sich eine signifikante Hyperintensität im kontralateralen *Corpus callosum*. Nach 6 Stunden nahm das hyperintense Areal an Umfang und Intensität zu. Die Mittellinienverlagerung zeigte eine leichte Progredienz. Diese Entwicklung verstärkte sich 24 Stunden nach Trauma. Hinzukommend zeigte sich eine mäßige Herniation des Kontusionsbereichs über den Trepanationsdefekt hinaus, sowie ein beginnender Liquoraufstau des kontra- und z. T. auch ipsilateralen Ventrikels infolge Foramen Monroi-Blockade.

Die volumetrische Beschreibung der Intensitätsentwicklung über die Zeit (90 Minuten - 6 Stunden - 24 Stunden nach Trauma) in der Verum- und Plazebogruppe beschreibt Abbildung 3.34. 90 Minuten nach Trauma fiel ein signifikant erhöhtes Ödemvolumen der

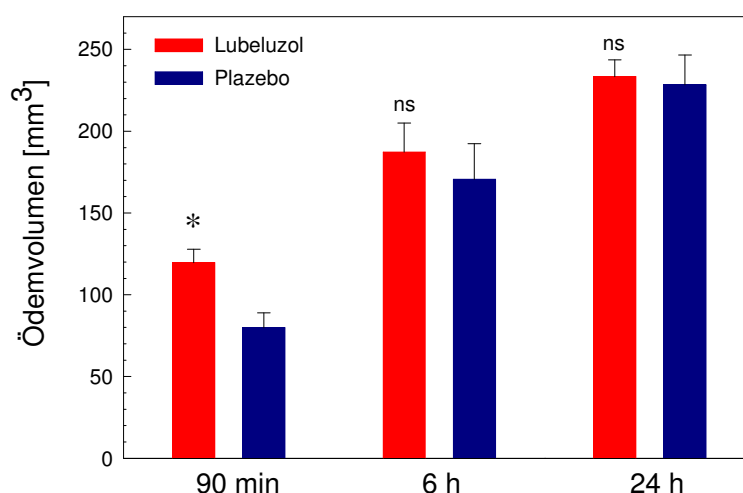


Abbildung 3.34: Volumen ödematisierten Gehirns 90 min, 6 h bis 24 h nach Trauma unter Einfluß von Lubeluzol-Applikation (0.8 mg/kg KG nach 15 und 75 min nach Trauma). Die Bestimmung der Ödemvolumina erfolgte anhand der T2-gewichteten MRT-Daten 90 min, 6 und 24 h nach Trauma. Verum n=7, Plazebo n=8 (\* signifikant, ns nicht signifikant).



behandelten Gruppe ( $120 \pm 7 \text{ mm}^3$ ) gegenüber der Plazebo-Gruppe ( $80 \pm 8 \text{ mm}^3$ ) auf. In den Messungen nach 6 Stunden (Verum  $187 \pm 15 \text{ mm}^3$ , Plazebo  $171 \pm 18 \text{ mm}^3$ ) und 24 Stunden (Verum  $233 \pm 8 \text{ mm}^3$ , Plazebo  $228 \pm 15 \text{ mm}^3$ ) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. In beiden Gruppen gibt es einen jeweils signifikanten Anstieg der Volumina von 90 Minuten zu 6 Stunden nach Trauma ( $p < 0.05$ ), sowie von 6 Stunden nach 24 Stunden nach Trauma ( $p < 0.05$ ). Abbildung 3.35 zeigt den Zeitverlauf anhand von drei T2-gewichteten Bildern.

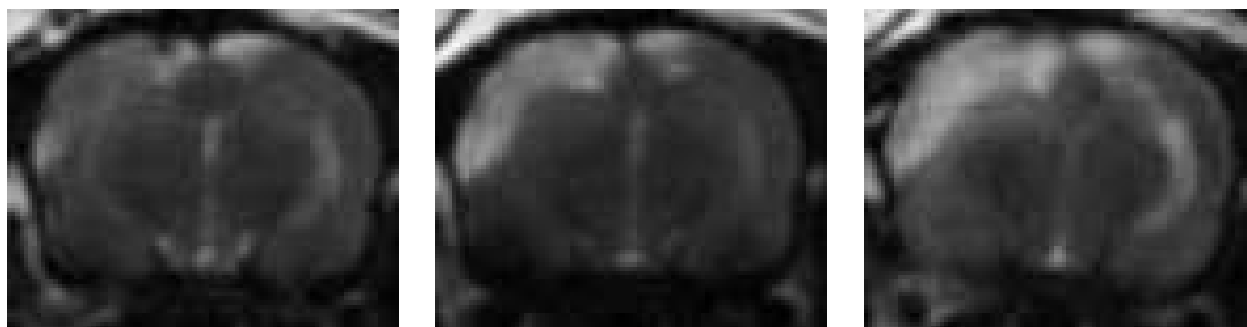


Abbildung 3.35: Ödementwicklung dargestellt anhand T2-gewichteter Bilder 90 min, 6 h und 24 h nach Trauma. Es kommt zu einer Intensitätssteigerung bei gleichzeitiger Zunahme des Ödemvolumens sowie Progredienz der Mittellinienverlagerung.

## Histologie

In den nach 24 Stunden histologisch bestimmten Kontusionsvolumina der zuvor kernspintomographisch untersuchten Tiere ergab sich keine signifikante Reduktion ( $p > 0.05$ ) des Kontusionsvolumens der Lubeluzol-behandelten Tiere ( $49 \pm 4 \text{ mm}^3$ ) gegenüber den Kontroll-Tieren ( $50 \pm 4 \text{ mm}^3$ ) (s. Abbildung 3.36).

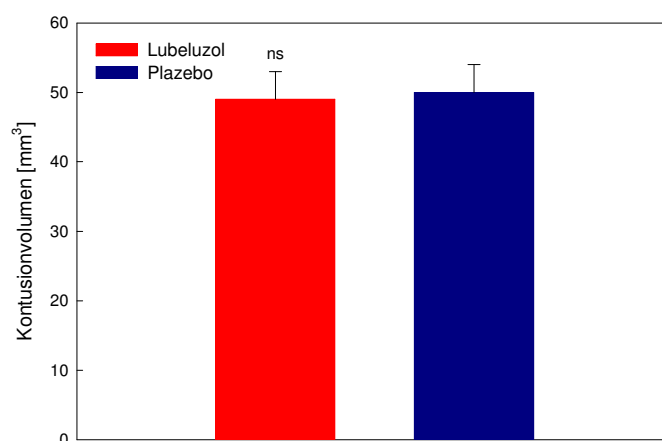


Abbildung 3.36: Die histologisch bestimmten Kontusionsvolumina unterscheiden sich 24 h nach Trauma nicht signifikant zwischen Verum- und Kontroll-Gruppe

Es wurden die prozentualen Kontusionsvolumina 24 Stunden nach Trauma anhand der koronaren,  $10 \mu\text{m}$  dicken, histologischen Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte (Abbildung

3.37) bestimmt. Diese Volumina korrelierten ( $r_s = 0.81$ ) mit den entsprechenden prozentualen Ödemvolumina, die in der MRT-Messung 24 Stunden nach Trauma bestimmt wurden (s. Abbildung 3.38).



Abbildung 3.37: Der 10  $\mu\text{m}$  dicke Koronarschnitt in HE-Färbung zeigt die linksparietale Kontusion mit diskreter Mittellinienverlagerung nach rechts.

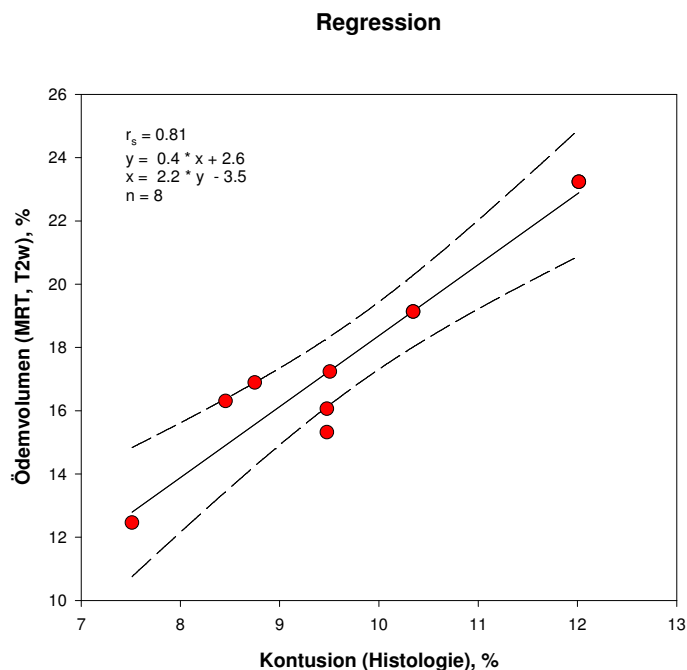


Abbildung 3.38: Lineare Regressionsanalyse der prozentualen Kontusionsgrößen der Histologie und des Volumens ödematisierten Gehirns anhand von T2-gewichteten Daten mit Darstellung der 95 % Konfidenzbereiche; n = 8 (Plazebotiere).

### T1-gewichtete Bildgebung

In den koronaren, T1-gewichteten Bildern stellte sich bereits 90 Minuten nach Trauma eine stark hyperintense, sichelförmige Struktur der parietalen Kortexoberfläche dar. Darunter liegend zeichnete sich ein breites, hypointenses Areal ab, das in seiner Ausdehnung der Hyperintensität der T2-gewichteten Bildgebung entsprach, einschließlich des bis nach kontralateral hinüberreichenden Mantelkantenareals und des *Corpus callosum*. Nach 6 Stunden wurde in dem Cortexareal unterhalb der weiterhin hyperintensiven Sichelstruktur eine flaue Signalverstärkung gesehen, die aber auf die ipsilatereale Hemisphäre begrenzt blieb. Die Signalverhältnisse entsprachen 24 Stunden nach Trauma denen der Frühaufnahmen (90 Minuten) bei leichter Progredienz der Mittellinienverlagerung.

### T1-gewichtete Bildgebung nach Kontrastmittelapplikation

Nach Kontrastmittelapplikation (s. Abschnitt 2.6.6) zum 90-Minuten Zeitpunkt ergab sich im Zeitverlauf über die folgenden 40 Minuten eine flächenmäßig signifikant ( $p < 0.05$ ) zunehmende Kontrastierung des zuvor hypointensen Areals unterhalb der Randsichel (s. Abbildungen 3.39 und 3.40).

Auch nach Kontrastmittelapplikation 6 Stunden nach Trauma kam es analog in den folgenden 40 Minuten zu einem signifikanten Zuwachs der kontrastmittelanreichernden Fläche, wobei die kontrastierte Gesamtfläche größer als die zum 90-Minuten-Zeitpunkt war. Der relative Flächenzuwachs während dieser 40 Minuten war aber aufgrund der bereits im nativen 6-Stunden-Bild sichtbaren, vorbestehenden Hyperintensität im Vergleich

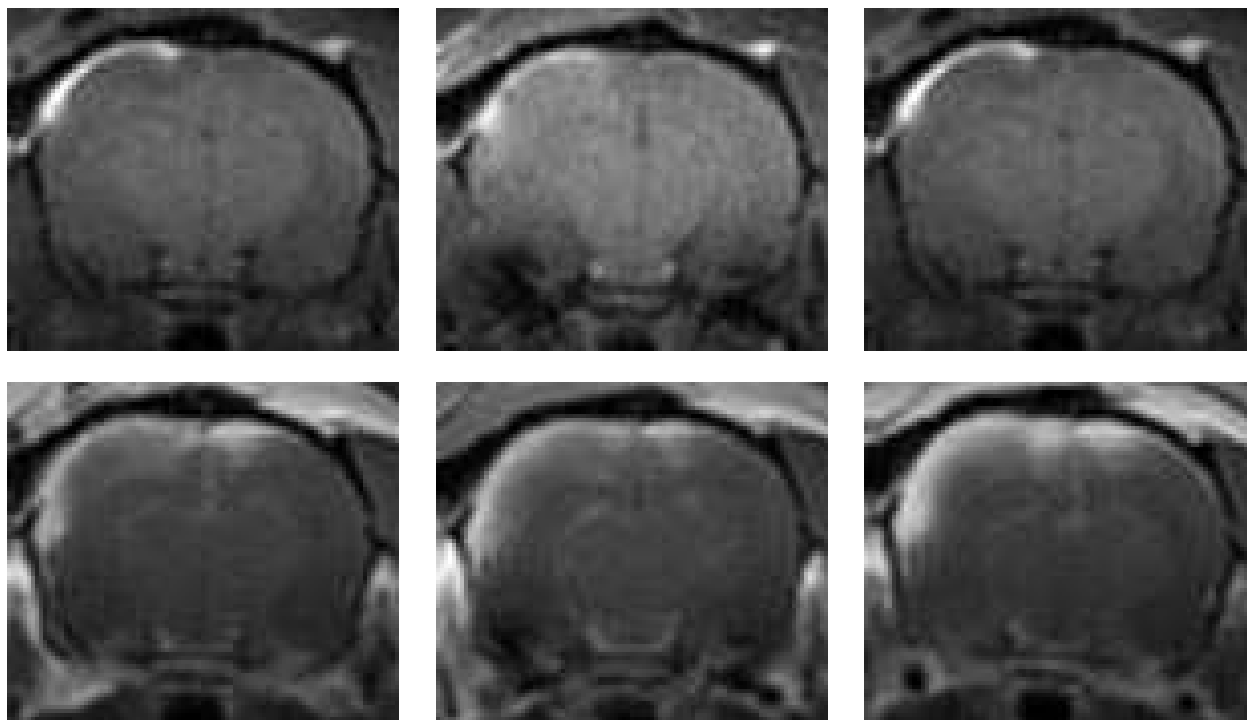


Abbildung 3.39: T1-gewichtete Bildgebung (obere Reihe) und T1-gewichtete Bildgebung nach Gd-DTPA-Gabe (post-KM, untere Reihe) im Zeitverlauf: 90 min, 6 h, 24 h nach Trauma. Neben der initialen Hyperintensität im Nativbild zeigt die untere Bildreihe den über die Zeit sukzessiv zunehmenden Kontrastmittelaustritt als Hinweis auf eine zunehmende Blut-Hirn-Schrankenstörung. Aufnahmeparameter siehe Tabelle 2.4.

KM-Extravasation: Lubeluzol versus Plazebo

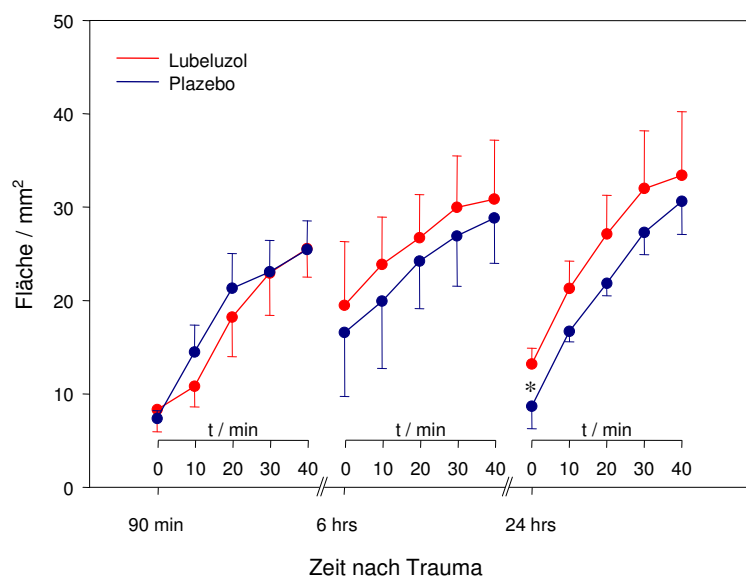


Abbildung 3.40: Zeitverlauf nach KM-Applikation unter Lubeluzol-Applikation.

zum 90-Minuten-Bild verringert. In der erneuten Kontrastmittelgabe nach 24 Stunden wurde ein im Vergleich zum 6-Stundenwert nicht signifikant unterschiedlich großes Areal dargestellt. Die Plazebo-Gruppe zeigte kein signifikant unterschiedliches Ergebnis zur Verumgruppe, mit Ausnahme der in der im T1-Bild der Verumgruppe nach 24 Stunden vergrößerten Randsichel (Abbildung 3.40), so daß die Ergebnisse beider Gruppen in Abbildung 3.41 zusammengefaßt wurden. Diese Abbildung zeigt, daß nach 6 und 24 Stunden das Areal der Kontrastmittelextravasation gegenüber 90 Minuten nach Trauma signifikant erhöht war, daß es also über die Zeit von 24 Stunden zu einer zunehmenden Blut-Hirn-Schrankenstörung kommt. Kleine Signalintensitätserhöhungen nach Kontrastmittelgabe fanden sich im Bereich der basalen Zisternen und der Falx.

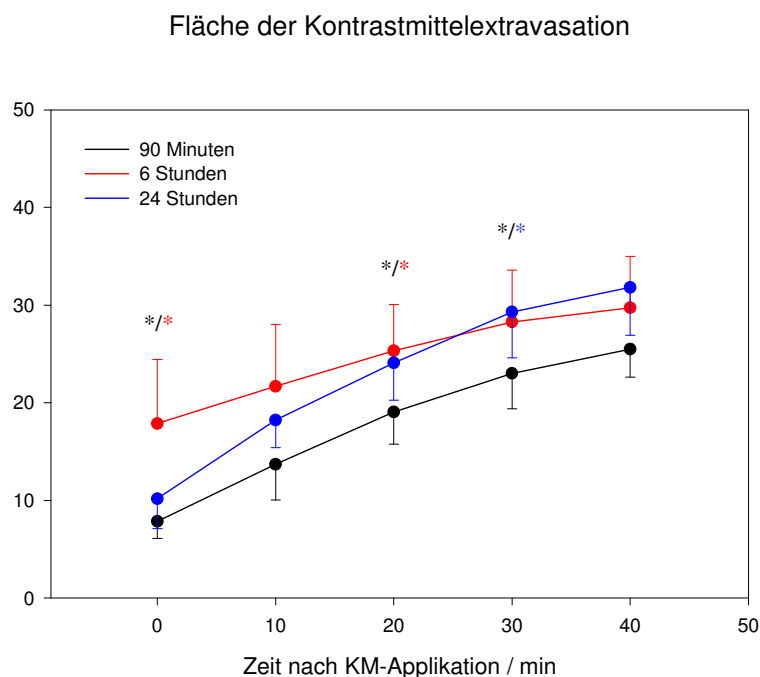


Abbildung 3.41: Zeitliche Dynamik der Kontrastmittelextravasation über 40 Minuten 90 Minuten (schwarz), 6 Stunden (rot) bzw. 24 Stunden (blau) nach Trauma anhand der aus der Verum- und Plazebogruppe gepoolten Daten. Diese zeigten eine Sättigung der KM-Anreicherung. Der erhöhte Initialwert der 6 Stundenmessung macht einen Kontrastmittelrest aus der Voruntersuchung (90 Minuten) wahrscheinlich. Das farbige Sternchenpaar stellt signifikante Unterschiede der jeweiligen Untersuchungszeiten 90 min, 6 und 24 Stunden bei gleicher post-KM-Applikationszeit (0, 10, 20, 30, 40 min) dar.

## Diffusionsgewichtete Bildgebung und ADC-Mapping

Die koronaren diffusionsgewichteten Bilder zeigten in der Wichtung mit  $b_0 = 0 \text{ s/mm}^2$  eine leichte Hyperintensität in analoger Ausdehnung zu den T2-gewichteten Bilddaten. Mit steigender Wichtung ( $b_1 = 430 \text{ s/mm}^2$ ,  $b_2 = 950 \text{ s/mm}^2$  und  $b_3 = 1500 \text{ s/mm}^2$ ) kam es insgesamt zu einem deutlich zunehmenden Signalabfall aller Gewebeareale, wobei der Intensitätsabfall in der Kontusion in Relation zu den gesunden Bereichen geringer ausfiel. Somit kam es zu einer zunehmenden Kontrastierung beider Gewebeanteile (s. Abbildung 3.43). Die pixelweise Berechnung der apparenten Diffusionskoeffizienten ergab für den Kontusionsbereich gegenüber dem kontralateralen Kortexareal zu allen Zeitpunkten signifikant erniedrigte Werte mit Ausnahme des 24-Stunden-Wertes der Verumgruppe, wobei das Ausmaß der ADC-Absenkung zum Zeitpunkt 6 Stunden nach Trauma am deutlichsten war (s. Tabelle 3.5 und Abbildungen 3.42). Anhand der numerisch bestimmten ADC-Werte zeigte sich desweiteren, daß die in den diffusionsgewichteten Bilder ( $b_1 = 430 \text{ s/mm}^2$ ,  $b_2 = 950 \text{ s/mm}^2$  und  $b_3 = 1500 \text{ s/mm}^2$ ) dargestellten Hyperintensitäten nicht allein Folge eines 'T2-shine-through' Effektes, also der trotz ansteigender Gradientenwichtung in den Gradientenbildern 'hindurchscheinenden' T2-Hyperintensitäten, sind, sondern daß es sich um eine echte Erniedrigung der ADC-Werte handelt.

ADC-Verlauf: Lubeluzol versus Plazebo

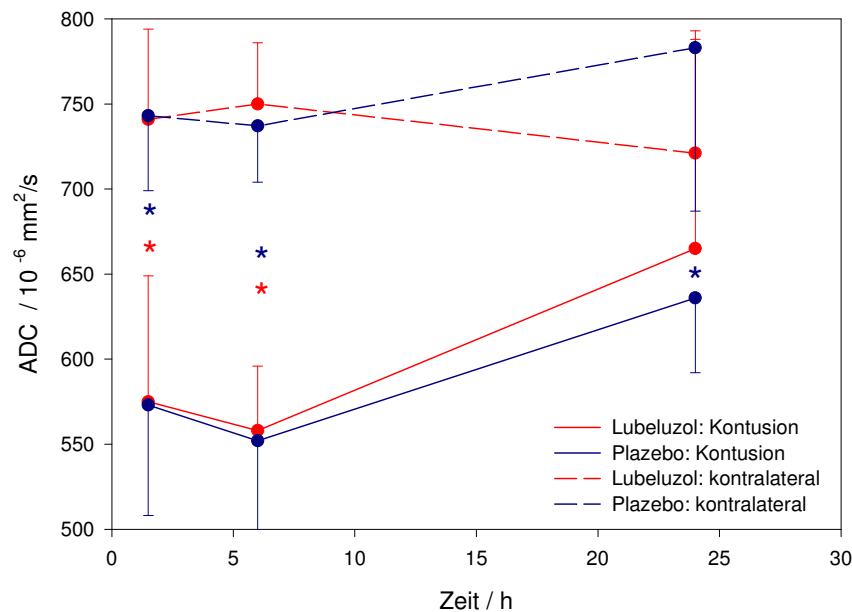


Abbildung 3.42: ADC-Verlauf des Kontusionsareals und des korrespondierenden, kontralateralen Kortexbereichs unter Lubeluzol- und Plazebo-Applikation, 90 min, 6 h und 24 h nach Trauma. Es kam nach 90 min und 6 Stunden zu einer signifikanten Absenkung des ADC-Wertes der Plazebo- und Verum-Gruppe. Es ergaben sich keine Signifikanzen hinsichtlich der zeitlichen Entwicklung bzw. im Vergleich der Lubeluzol und Plazebo-behandelten Tiere.

ADC-Werte nach Lubeluzol-Gabe ( $10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$ )			
Zeitpunkt nach Trauma	Substanz	Ipsilateraler Cortex	Kontralateraler Cortex
90 min	Verum	$585 \pm 65$	$737 \pm 47$
	Plazebo	$577 \pm 69$	$731 \pm 28$
6 h	Verum	$550 \pm 35$	$752 \pm 30$
	Plazebo	$556 \pm 63$	$734 \pm 35$
24 h	Verum	$656 \pm 88$	$720 \pm 51$
	Plazebo	$635 \pm 48$	$804 \pm 117$

Tabelle 3.5: Die ADC-Werte des traumatisierten Areals sind gegenüber dem kontralateralen Cortexareals nach Verum- und Lubeluzol-Gabe 90 min und 6 h nach Trauma signifikant erniedrigt, 24 h nach Trauma nur in der Verumgruppe.

### Schwellung, Wassergehalt und physiologische Parameter

Entsprechend den Ergebnissen von Tabelle 3.6 und Abbildung 3.44 zeigte Lubeluzol 24 Stunden nach Kontusion keine signifikanten Änderungen des ICP oder MABP, sowie dem daraus resultierenden zerebralen Perfusionsdruck (CPP)<sup>1</sup>, ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied der Blutgasparameter pH,  $p_a\text{O}_2$  und  $p_a\text{CO}_2$  (Kroppenstedt *et al.*, 1999).

Blutgasanalyse, 24 h nach Trauma			
	pH	$p_a\text{CO}_2$ (mm Hg)	$p_a\text{O}_2$ (mm Hg)
Lubeluzol	$7.42 \pm 0.01$	$38 \pm 1$	$145 \pm 10$
Plazebo	$7.42 \pm 0.01$	$38 \pm 1$	$152 \pm 7$

Tabelle 3.6: Ergebnisse der Blutgasanalyse 24 Stunden nach CCII.

Die nach Gleichung 2.2 berechnete Hemisphärenschwellung 24 Stunden nach Trauma zeigte keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0.05$ ) zwischen der Verum-Gruppe ( $20.7 \pm 0.9 \%$ ) und der Kontrollgruppe ( $20.6 \pm 1.0 \%$ ) (Abbildung 3.45). Die Substanz zeigte keinen Einfluß auf den posttraumatischen Wassergehalt der traumatisierten Hemisphäre (Lubeluzol:  $82.02 \pm 0.10 \%$ , Kontrolle:  $82.04 \pm 0.13 \%$ ,  $p > 0.05$ ), ebenso ergab sich in der kontralateralen Hemisphäre kein Unterschied (Lubeluzol:  $79.02 \pm 0.08 \%$ , Kontrolle:  $79.02 \pm 0.10 \%$ ,  $p > 0.05$ ).

---

<sup>1</sup>Der zerebrale Perfusionsdruck bestimmt sich aus der Differenz des mittleren arteriellen Blutdrucks (MABP) und des intrazerebralen Drucks (ICP):  $\text{CPP} = \text{MABP} - \text{ICP}$ .

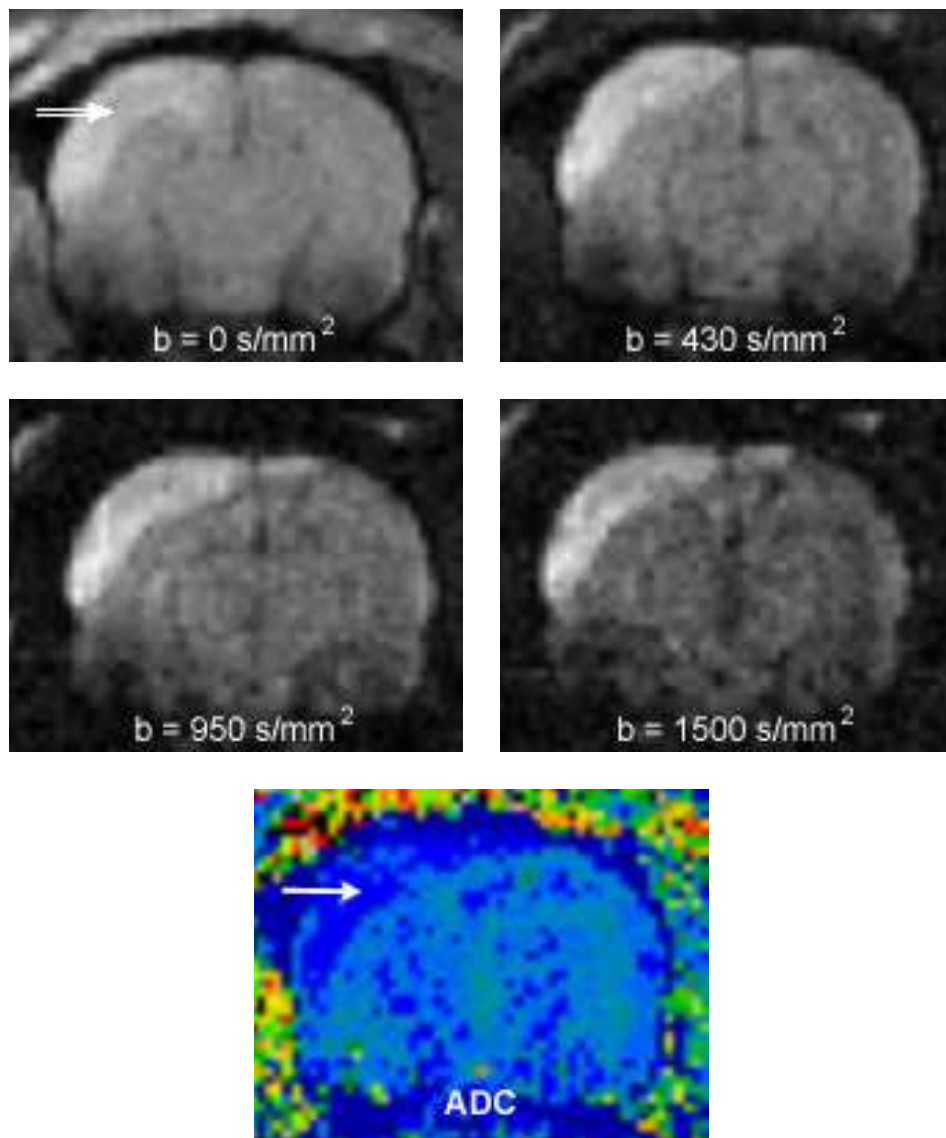


Abbildung 3.43: Diffusionsgewichtete Bildgebung und berechnete ADC-Map (24 Stunden nach Trauma): In dem nicht ( $b = 0 \text{ s/mm}^2$ ) diffusionsgewichteten Bild stellt sich deutlich eine hyperintense Ödemzone dar ( $\Rightarrow$ ). In den diffusionsgewichteten Bildern ( $b = 430 \text{ s/mm}^2$  bis  $b = 1500 \text{ s/mm}^2$ ) kommt es zu einem ansteigenden, relativen Signalzuwachs der Ödemzone, der sich aus dem zunehmenden Signalabfall der nicht betroffenen Strukturen erklärt. Die ADC-Map zeigt durch das Absinken der ADC-Werte in der Ödemzone ( $\rightarrow$ ), daß es sich bei den hyperintensiven Arealen der diffusionsgewichteten Bilder nicht um einen reinen 'T2-shine-through' Effekt handelt, sondern um einen echten Abfall der Diffusionskonstanten.



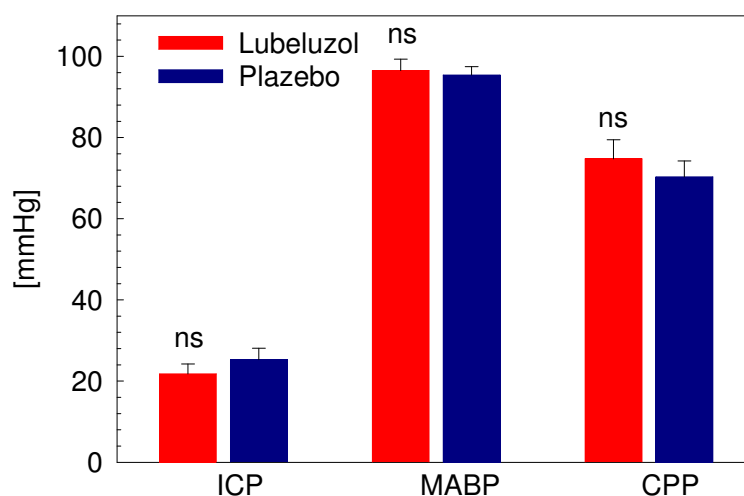


Abbildung 3.44: Auswirkung der Lubeluzol-Applikation auf den mittleren, arteriellen Blutdruck (MABP), intrakraniellen Druck (ICP) und dem aus der Differenz beider Größen berechneten Perfusionsdruck (CPP) 24 Stunden nach Trauma. Es kam zu keinen signifikanten Unterschieden in der Verum- und Placebogruppe.

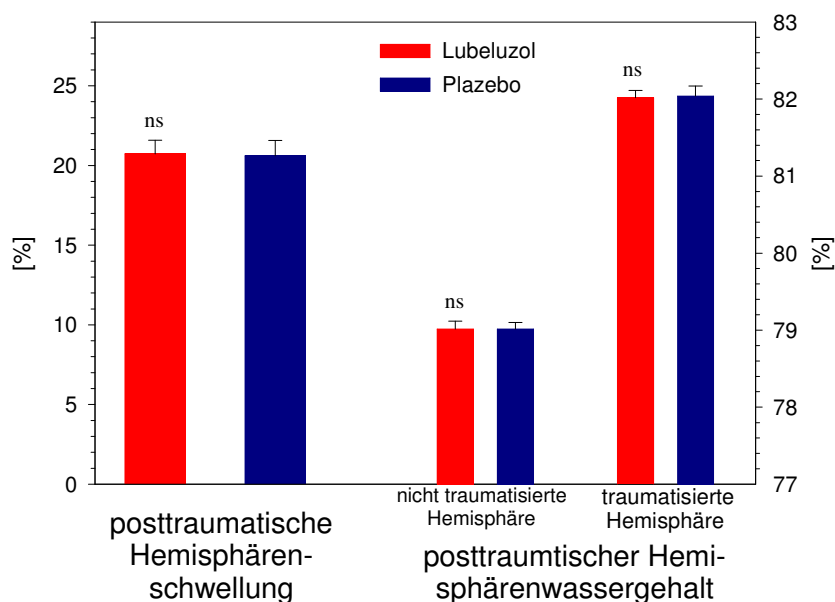


Abbildung 3.45: In der Placebo- und Verumgruppe konnten 24 Stunden nach Trauma keine signifikanten Differenzen hinsichtlich Wassergehalt und Hemisphärenschwellung der traumatisierten und nicht traumatisierten Hemisphäre gefunden werden.

### 3.6 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen

Die Untersuchungsserie der 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen (s. Abschnitt 2.9) umfaßte 10 Tiere, die 48 Stunden vor, sowie 90 Minuten, 6, 24, 48 Stunden und 7 Tage nach Trauma kernspintomographisch kontrolliert wurden. Ein Tier verstarb während der ersten kernspintomographischen Untersuchung.

Im Vergleich zur Lubeluzol-Studie kamen hier statt des TOMIKON-Protokolls die neu adaptierten ParaVision-Sequenzen zum Einsatz. Die in den ersten 24 Stunden nach Trauma beobachteten pathomorphologischen Veränderungen in der T2-gewichteten Bildgebung entsprachen denen der Lubeluzol-Studie (s. Abschnitt 3.5). Es kam 48 Stunden nach Trauma allenfalls zu einer leichten Ödemrückbildung bei weiterhin persistierender Mittellinienverlagerung und Ventrikelaufstau. 7 Tage nach Trauma zeigte sich bei weiterhin weiten inneren Liquorräumen mit einer Asymmetrie zugunsten des rechten Ventrikels ein Rückgang der Mittellinienverlagerung. Desweiteren ließ sich ein deutliches, etwa parallel zur Kortexoberfläche verlaufendes, zum Liquorraum isointenses Areal abgrenzen. Dieses ist jedoch gegenüber der maximalen Ödemausdehnung nach 24 bzw. 48 Stunden flächenmässig deutlich kleiner (s. Abbildung 3.46).

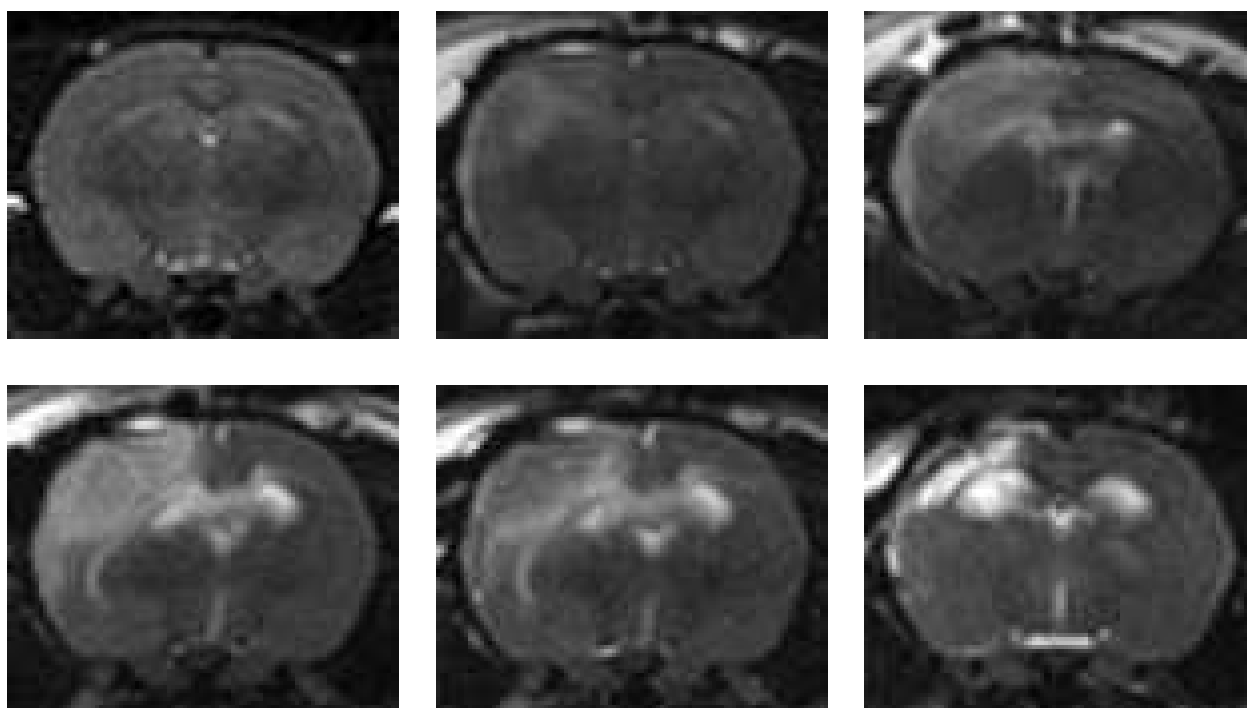


Abbildung 3.46: T2-gewichtete Bildgebung im Zeitverlauf: vor, sowie 90 min, 6 h, 24 h, 48 h und 7 Tage nach Trauma (von links oben nach rechts unten). Es zeigt sich deutlich die zunehmende Ödemausdehnung und -intensität, mit Mittellinienverlagerung und Foramen Monroi-Blockade (bereits 6 h nach Trauma beginnend).

Die quantitative Auswertung hinsichtlich der Ödemvolumina zeigte 90 Minuten, 6 und 24 Stunden nach Trauma einen analogen, nicht signifikant unterschiedlichen Verlauf zur Lubeluzol-Studie, mit  $95 \pm 15 \text{ mm}^3$  Ödemvolumen nach 90 Minuten (Plazebo-Gruppe der Lubeluzol-Studie:  $80 \pm 8 \text{ mm}^3$ ),  $161 \pm 29 \text{ mm}^3$  nach 6 Stunden (Plazebo-Gruppe:

$171 \pm 18 \text{ mm}^3$ ), und  $203 \pm 26 \text{ mm}^3$  nach 24 Stunden (Plazebo-Gruppe:  $228 \pm 15 \text{ mm}^3$ ). Der 48 Stunden-Wert ( $199 \pm 36 \text{ mm}^3$ ) zeigte keinen signifikanten Unterschied zum 24 Stunden-Wert, nach 7 Tagen kam es zu einem gegenüber dem 24- und 48-Stunden-Wert signifikanten Abfall des Volumens des hypertensen Areals auf  $115 \pm 25 \text{ mm}^3$  (Abbildung 3.47).

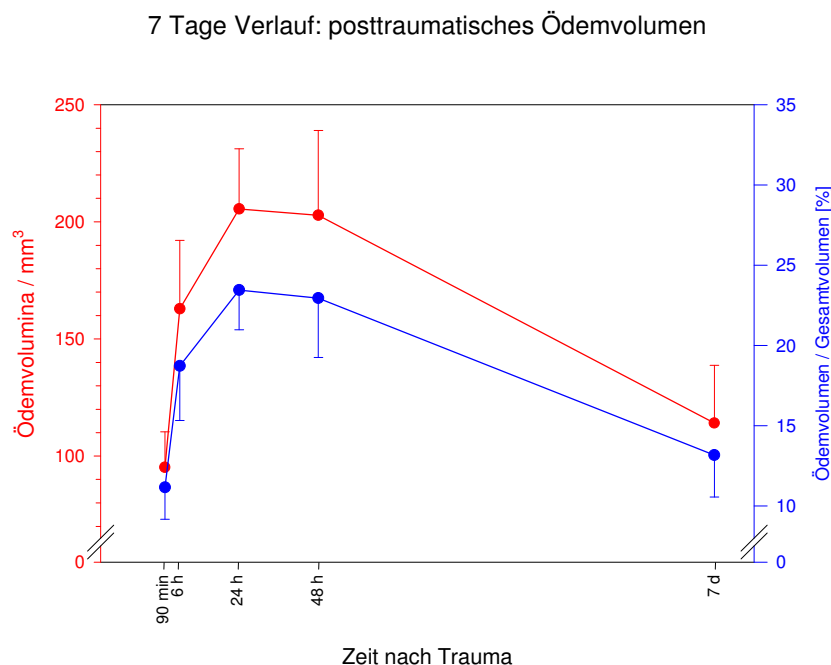


Abbildung 3.47: Ödemvolumen (rot) sowie prozentualer Anteil des Ödemvolumens an dem Gesamthirnvolumen (blau) in der 7-Tage-Verlaufsuntersuchung. Signifikanter Anstieg des Ödemvolumens von 90 min auf 24 bzw. 48 h, ebenso signifikant der Abfall von 24 bzw. 48 h auf 7 Tage.

Die T1-gewichtete Bildgebung in den ersten 24 Stunden entsprach der aus der Lubeluzol-Studie (s. S. 60). Das Bild 48 Stunden nach Trauma entsprach weitgehend den Verhältnissen nach 24 Stunden. Nach 7 Tagen fielen am Kontusionsrand kleinere primär hyperintense Areale auf.

Die Kontrastmittelapplikation hob am gesunden Tier in der post-KM-T1-gewichteten Bildgebung gegenüber der T1-Wichtung die Falx und Pinealis (Mitro & Palkovits, 1981; Reiser & Semmler, 1992) hervor (Abbildung 3.48 und 3.49). In den nativen, posttraumatischen T1-gewichteten Bildern zeigte sich eine hyperintense, sichelartig der Cortexoberfläche anliegende Struktur. Diese zeichnete sich nach KM-Gabe zunehmend deutlicher ab und kontrastierte im Zeitverlauf bis 48 Stunden zunehmend das Areal, das im T2-gewichteten Bild hyperintens erschien. Desweiteren kam es zu einer auffälligen, in radialer Ausrichtung verlaufenden Kontrastmittelextravasation nach 90 Minuten, was in den Aufnahmen nach 24 und 48 Stunden weitgehend ausblieb (s. Abbildung 3.49).

Die über 40 Minuten erfasste Kontrastmitteldynamik (Abbildung 3.50) zeigte zu allen Applikationszeiten eine signifikante, flächenmäßig zunehmende Kontrastmittelanreicherung mit Sättigungskinetik. Deutlich flacher fiel der Anstieg nach 7 Tagen aus, der Nativwert lag aber signifikant über dem Nativwert nach 90 Minuten und 6 Stunden.

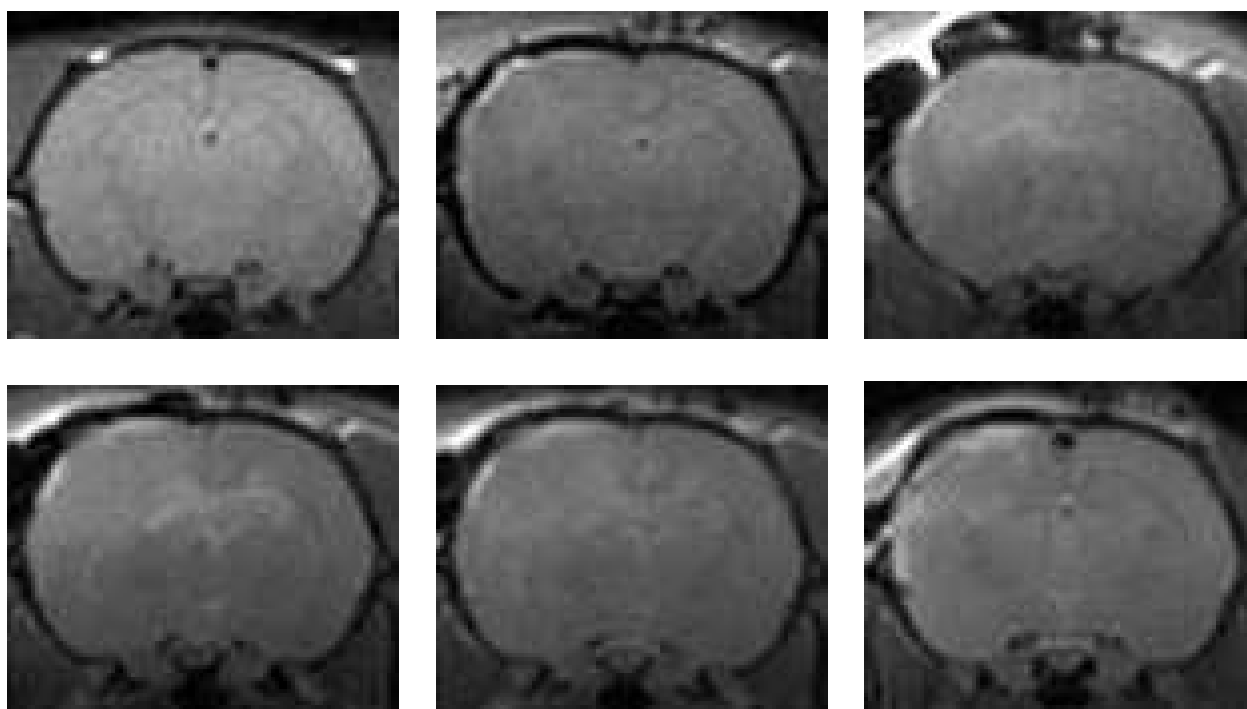


Abbildung 3.48: T1-gewichtete Bildgebung im Zeitverlauf: vor, sowie 90 min, 6 h, 24 h, 48 h und 7 Tage nach Trauma (von links oben nach rechts unten). Neben der primär hyperintensiven Sichelstruktur 90 min nach Trauma kam es nach 6 h zu einer flauen, aber großflächigen Signalanhebung analog zu dem Ödembereich der T2-Wichtung. Nach 7 Tagen nahm die primär hyperintense Sichelstruktur an Breite und Ausdehnung zu.

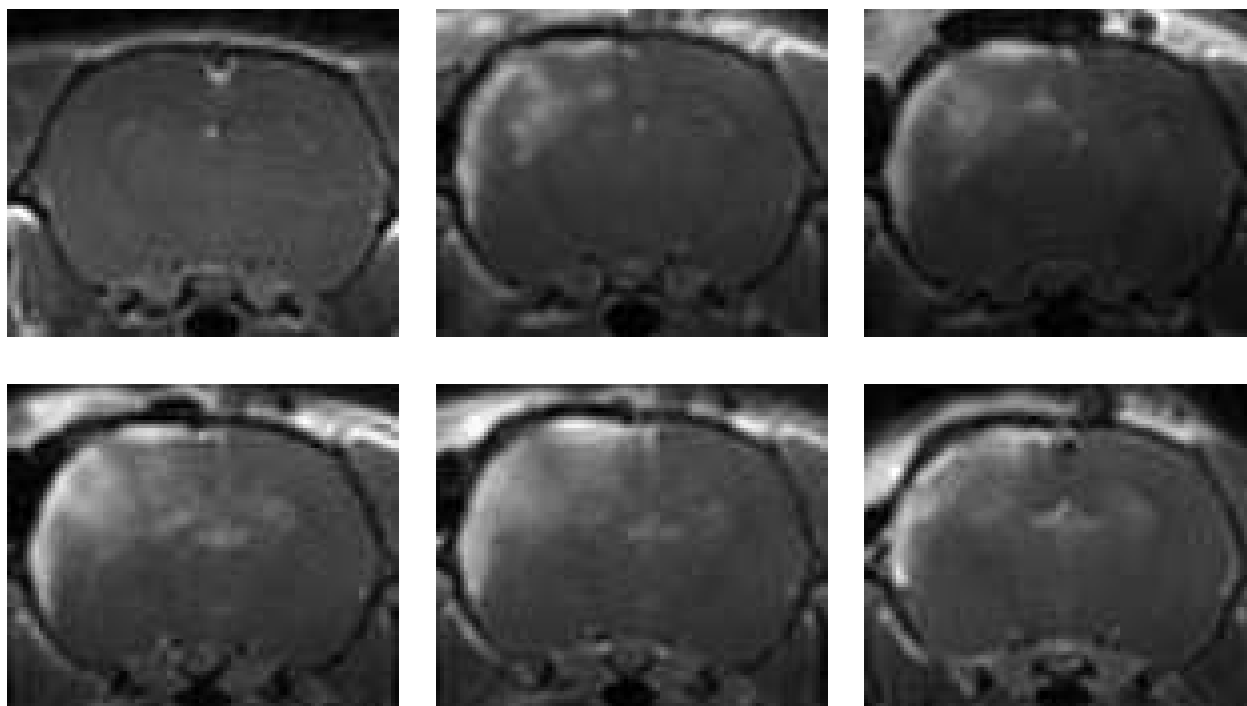


Abbildung 3.49: T1-gewichtete Bildgebung nach Kontrastmittelgabe im Zeitverlauf: vor, sowie 90 min, 6 h, 24 h, 48 h und 7 Tage nach Trauma, Meßzeitpunkt jeweils 40 min nach Kontrastmittelapplikation.

#### 7 Tage Verlauf: Kontrastmittelextravasation

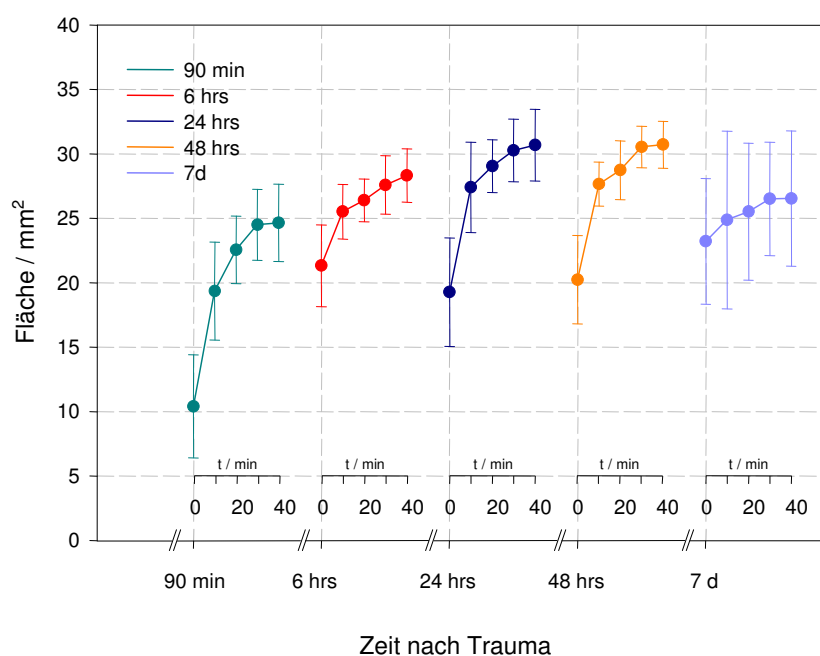


Abbildung 3.50: Kontrastmittelextravasation im 7-Tage-Verlauf. Jeder Polygonen-Zug beschreibt eine sich über 40 Minuten erstreckende Meßreihe, der Zeitpunkt 0 entspricht der nativen T1-gewichteten Messung.

### 3.7 Histogramm-Darstellung und Gewebeclustering

Das Prinzip der Histogramm-basierten Gewebeclustering beruht auf der Idee, wonach unterschiedliche Gewebetypen, die sich in *einer* Bildwichtung isointens verhalten und somit nicht differenzierbar sind, unter zur Hilfenahme *weiterer*, distinktiv gewichteter Bildgebungsarten unterscheiden lassen. Umgekehrt sollten aber auch nicht zusammenhängende Gewebeareale, die in mehreren unterschiedlichen Bildwichtungen jeweils vergleichbar zur Darstellung kommen, eine hohe Ähnlichkeit oder auch Identität aufweisen. Im einfachsten Falle, der zweidimensionalen Gewebeclustering, werden jeweils unterschiedliche Bildwichtungen paarweise, quasi synoptisch betrachtet. Die in beiden Bildern enthaltene Information wird hinsichtlich ihrer Ähnlichkeit in einem planaren Parameterraum aufgespannt<sup>2</sup>.

Das Prinzip der im folgenden dargestellten Gewebeclustering mit Histogramm-Darstellung sei anhand der nachstehend abgebildeten Schemazeichnung (s. Abbildung 3.51) erläutert. Aus einem 3 x 3 Pixel großen,  $x$ -gewichteten Bild (rechts oben) und einem weiteren,  $y$ -gewichteten Bild (unten) sei eine Histogrammdarstellung gebildet.  $p$  und  $q$  bezeichnen die Koordinaten der Pixelposition entlang der beiden Bildachsen. Dazu werden aus allen, jeweils korrespondierenden Pixeln der 3 x 3 Pixel großen Bilder Grauwertpaare  $(I(x)_{p,q}, I(y)_{p,q})$  erstellt. Diese Grauwertpaare werden entsprechend ihrer  $I(x)$ - und  $I(y)$ -Grauwerte in einem zweidimensionalen Koordinatensystem angeordnet und zu den bereits an dieser Stelle angeordneten Grauwertpaaren punktweise addiert. Somit findet sich ein bestimmtes, homogenes Gewebeareal in einer engumschriebenen Punktwolke wieder. Die Häufigkeit  $h$  eines Grauwertpaares wird, wie in der Abbildung skizziert, farbkodiert dargestellt. Aus dem Histogramm lassen sich im Idealfall nun unterschiedliche Punktwolken gegeneinander abgrenzen und in die jeweiligen Ausgangsbilder als 'overlay' zurückübertragen, so daß sich die Ortsinformation zurückgewinnen lässt.

---

<sup>2</sup> Höherdimensionale Histogramm-basierter Clusterungen laufen z. T. vollständig automatisiert auf entsprechenden Hochleistungsrechnern. Verwandt mit der Idee histogrammbasierter Clusteralgorithmen ist auch der Ansatz, Gewebedatenbanken aus mehreren Bildwichtungen aufzubauen, anhand der dann beispielsweise die noch unbekannte Dignität eines neu aufgetretenden Hirntumors abgeleitet werden könnte.

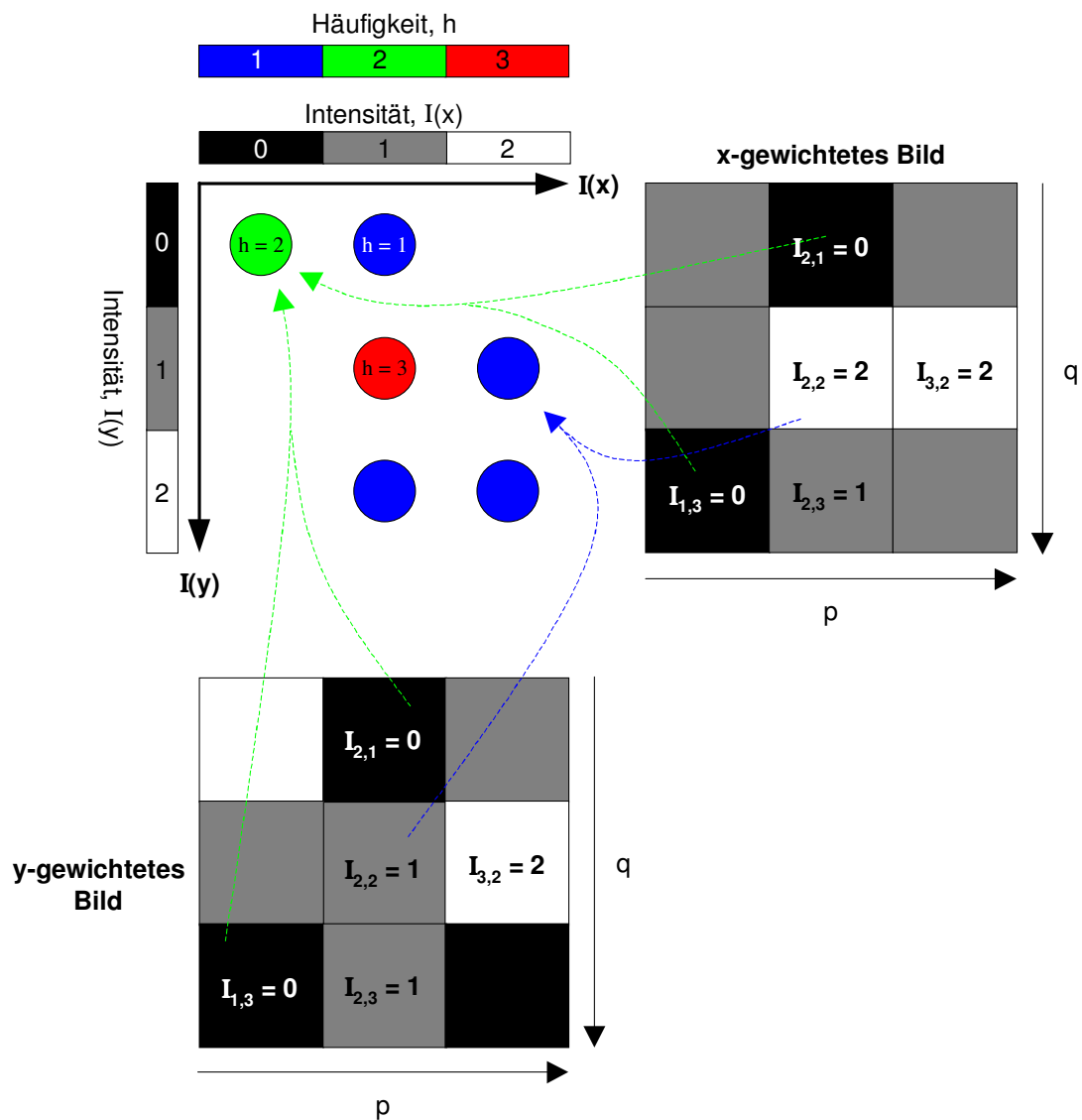


Abbildung 3.51: Prinzip der Histogramm-Bildung zweier unterschiedlicher, zueinander korrespondierender Bildqualitäten: Die Pixelintensitäten  $I(x)_{p,q}$ ,  $I(y)_{p,q}$  korrespondierender Pixel eines Bildpaares werden in einem 2-D-Plot gegeneinander aufgetragen. Die Häufigkeiten eines Intensitätspaares wurden dabei farbkodiert wiedergegeben.  $p$  und  $q$  bezeichnen die Koordinaten der Pixelposition entlang der beiden Bildachsen.

### 3.7.1 Zeitverlauf der Kontusion anhand der Cluster: T2-Wichtung/ADC

Gesunde Tiere

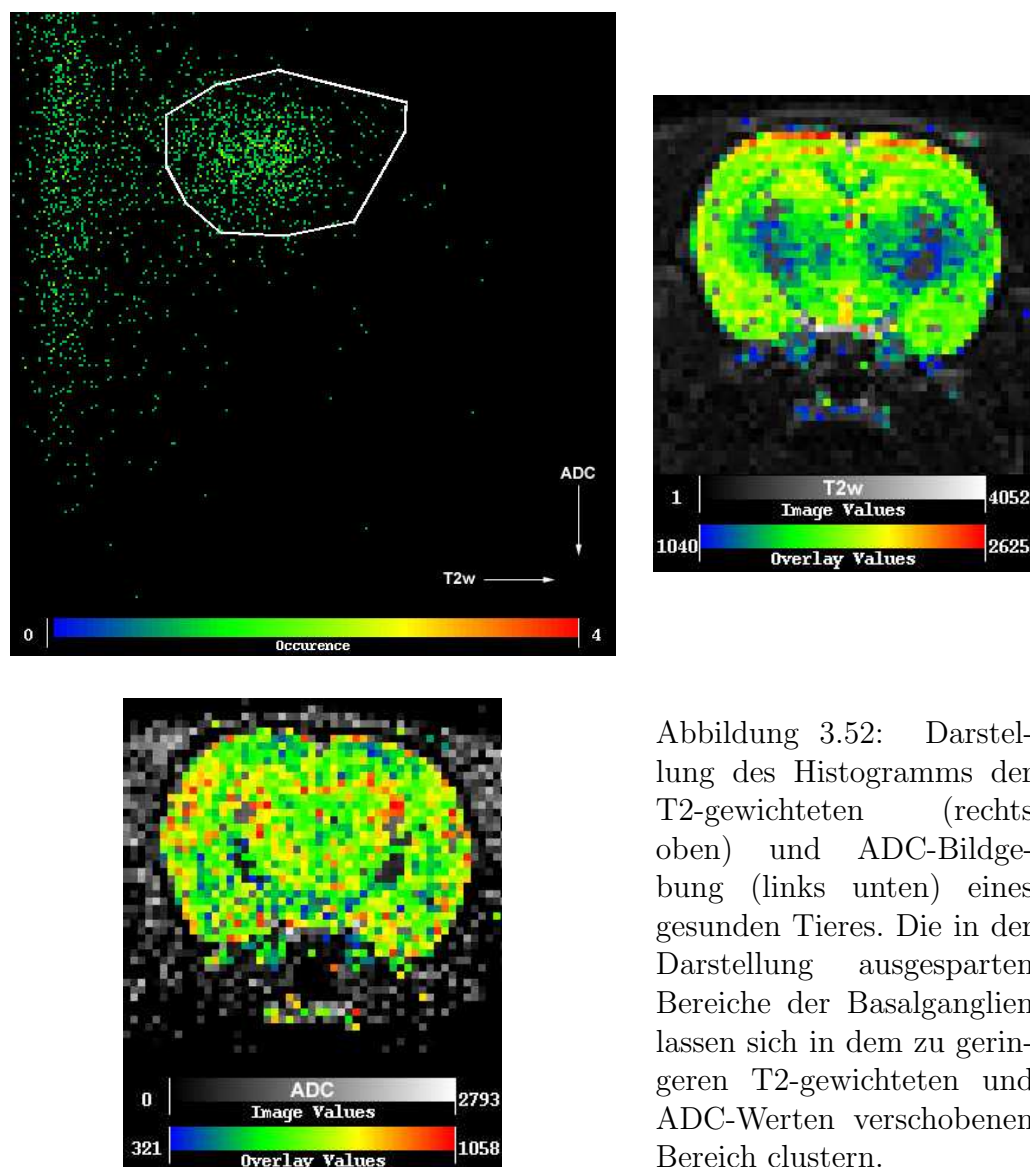


Abbildung 3.52: Darstellung des Histogramms der T2-gewichteten (rechts oben) und ADC-Bildgebung (links unten) eines gesunden Tieres. Die in der Darstellung ausgesparten Bereiche der Basalganglien lassen sich in dem zu geringeren T2-gewichteten und ADC-Werten verschobenen Bereich clustern.

Abbildung 3.52 zeigt die T2-gewichtete und ADC-Bildgebung eines gesunden Tieres in Histogramm-Darstellung. Unter Aussparung der Basalganglien lässt sich, wie in dem Histogramm dargestellt, das gesamte, gesunde Gehirn in einem relativ eng umschriebenen Areal selektieren. Die Rückübertragung der selektierten Pixelwolke als farbkodiertes 'overlay' in die T2-gewichteten und ADC-Bilder zeigt, daß das Gehirn sowohl weitgehend selektiv als auch vollständig erfaßt wurde. Nicht erfaßt wurden die Bereiche der Basalganglien. Diese sind in den Bereichen geringerer T2-Intensitäten und ADC-Werte lokalisiert. Der im Histogramm am linken Rand vertikal verlaufenden Pixelstreifen, ein Areal also, das geringen T2-gewichteten Werten bei einer breiten ADC-Wert-Streuung entspricht, repräsentiert das extrakranielle Gewebe, bestehend aus dem Fett-, Muskel- und Hautgewebe.



## 90 Minuten nach Trauma

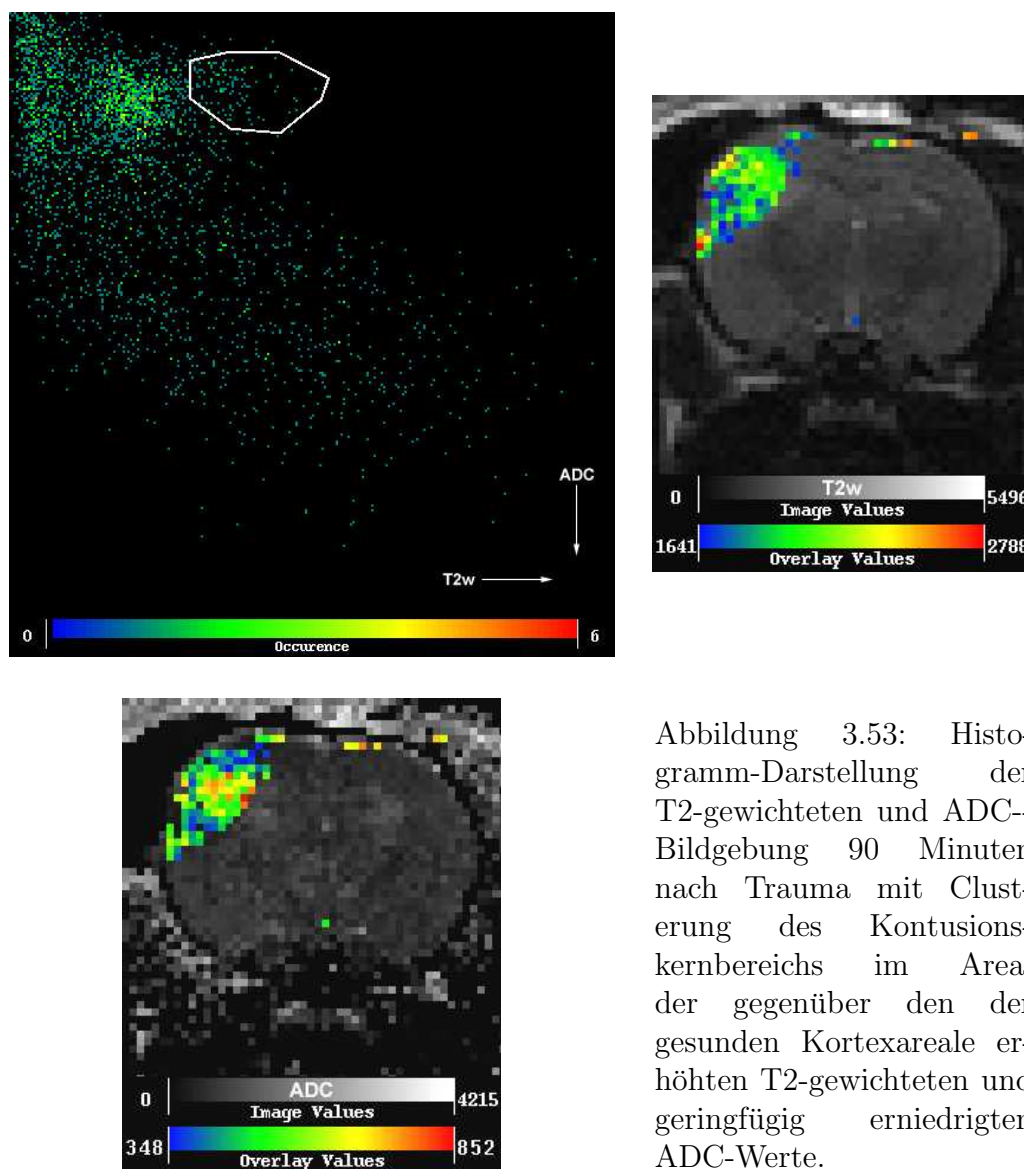


Abbildung 3.53: Histo-gramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 90 Minuten nach Trauma mit Clust-erung des Kontusions-kernbereichs im Areal der gegenüber den der gesunden Kortexareale erhöhten T2-gewichteten und geringfügig erniedrigten ADC-Werte.

90 Minuten nach Trauma ließ sich ein Bereich abgrenzen, der im Vergleich zu dem Areal des gesunden Kortex zu höheren T2- und geringfügig geringeren ADC-Intensitäten hin verschoben war. Dieser Bereich entsprach dem Kontusionsareal und ließ sich von der übrigen, gesunden Hirnsubstanz abgrenzen. Gleichzeitig 'wanderten' die in dem vertikalen Randstreifen, also bei geringen T2-Intensitäten angesiedelten Gewebereiche in den unteren rechten Quadranten, also zu höheren T2-Intensitäten. Dieses entsprach im wesentlichen den Ödemarealen im operativen Zugangsbereich der Haut und des Resektionsgebietes des *M. temporalis sinistra* (Abbildung 3.53).

## 6 Stunden nach Trauma

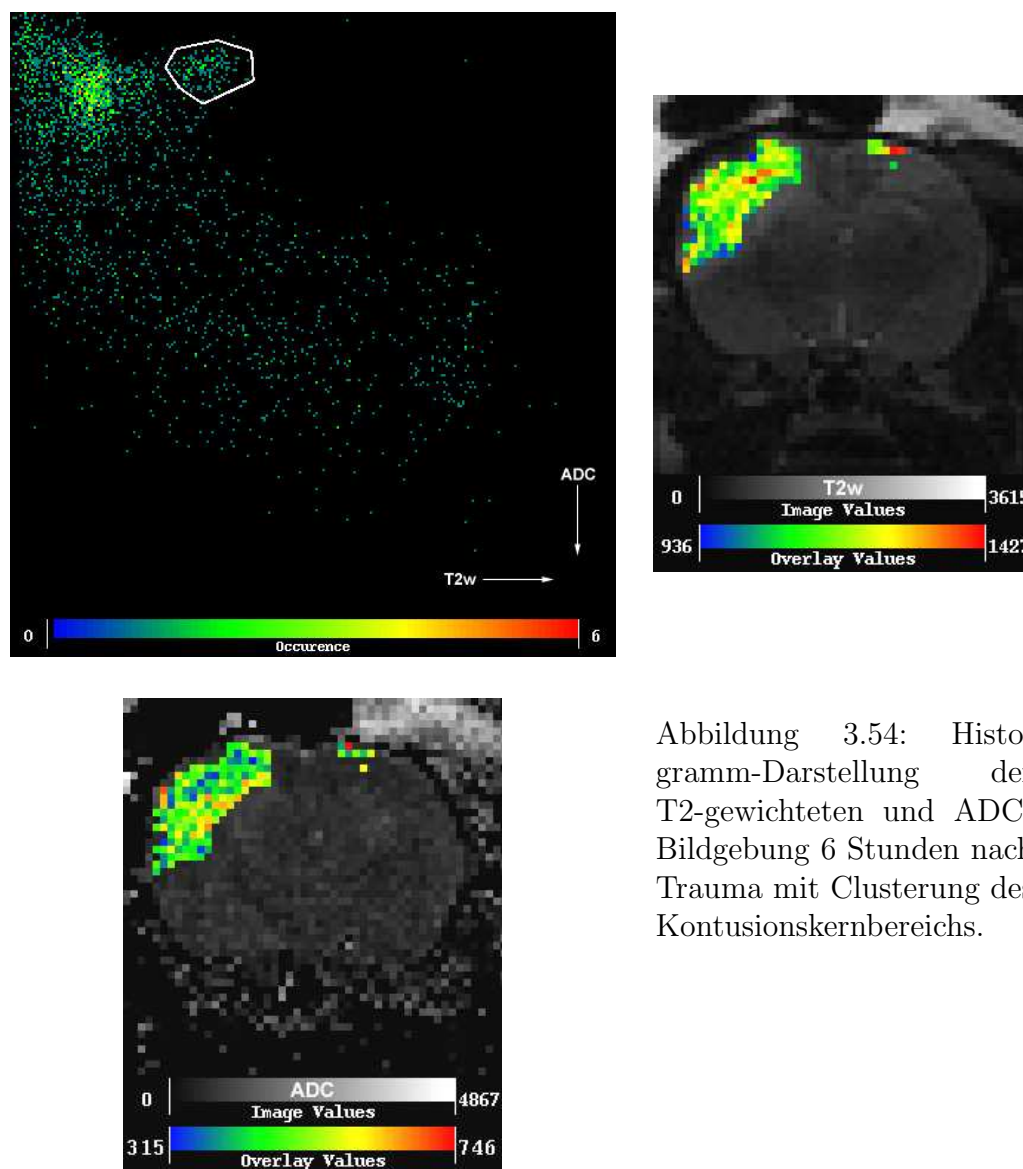


Abbildung 3.54: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 6 Stunden nach Trauma mit Clusterung des Kontusionskernbereichs.

Zum Meßpunkt 6 Stunden nach Trauma stellte sich das Kontusionscluster homogener dar und ließ sich schärfer von der nicht traumatisierten Gehirnschubstanz abgrenzen. Es kam desweiteren gegenüber dem 90-Minuten-Wert zu einer Verlagerung in Richtung niedrigerer ADC-Werte, bei weiterhin leicht steigenden T2-Intensitäten (s. Abbildung 3.54, sowie im Vergleich Abbildung 3.53).

## 24 Stunden nach Trauma

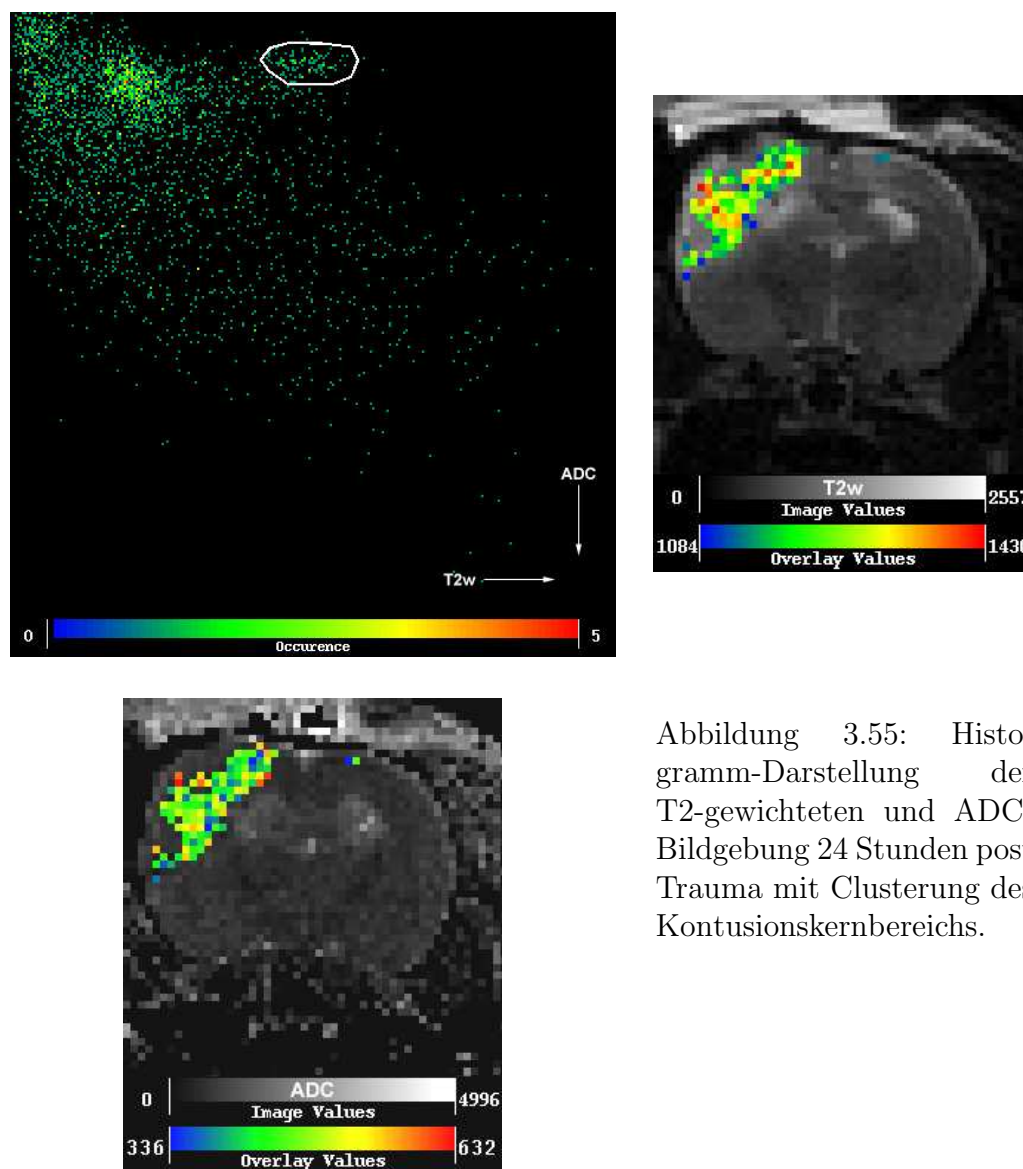


Abbildung 3.55: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 24 Stunden post Trauma mit Clusterung des Kontusionskernbereichs.

Durch die weiterhin ansteigenden T2-Intensitäten wurde das Cluster des Kontusionareals 24 Stunden nach Trauma (s. Abbildung 3.55) noch weiter in den Bereich höherer T2-gewichteter Werte verschoben (s. Abbildung 3.54). Die ADC-Werte blieben im Vergleich zum 6 Stunden-Wert unverändert.

## 48 Stunden nach Trauma

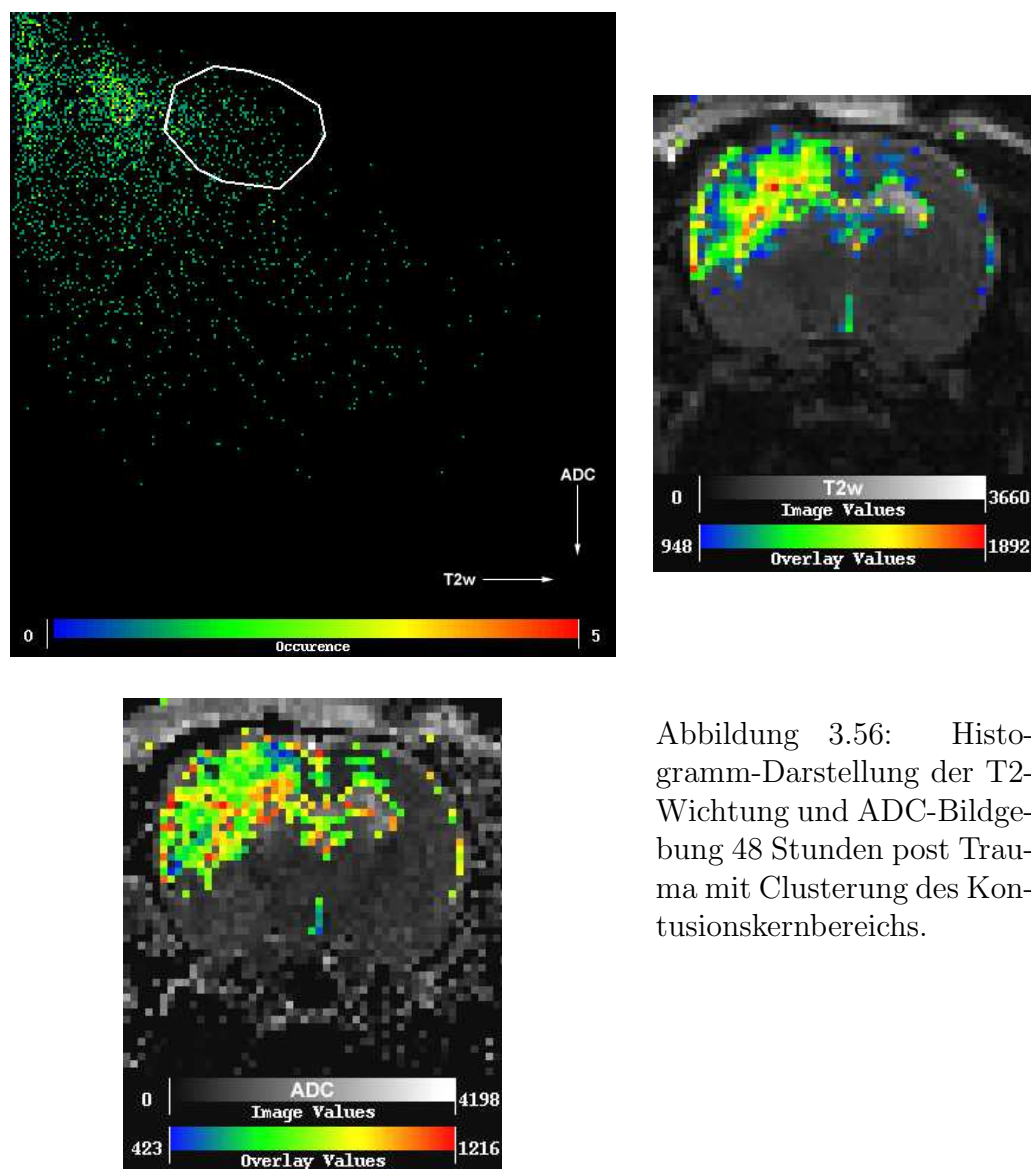


Abbildung 3.56: Histogramm-Darstellung der T2-Wichtung und ADC-Bildgebung 48 Stunden post Trauma mit Clusterung des Kontusionskernbereichs.

48 Stunden nach Trauma fielen die T2-Intensitäten wieder geringfügig auf niedrigere Werte zurück. Insbesondere kam es nun zu einem deutlichen Anstieg der ADC-Werte, bei insgesamt zunehmender Streuung der Intensitäten, im Histogramm (Abbildung 3.56) durch den zunehmenden Clusterdurchmesser verdeutlicht.

## 7 Tage nach Trauma

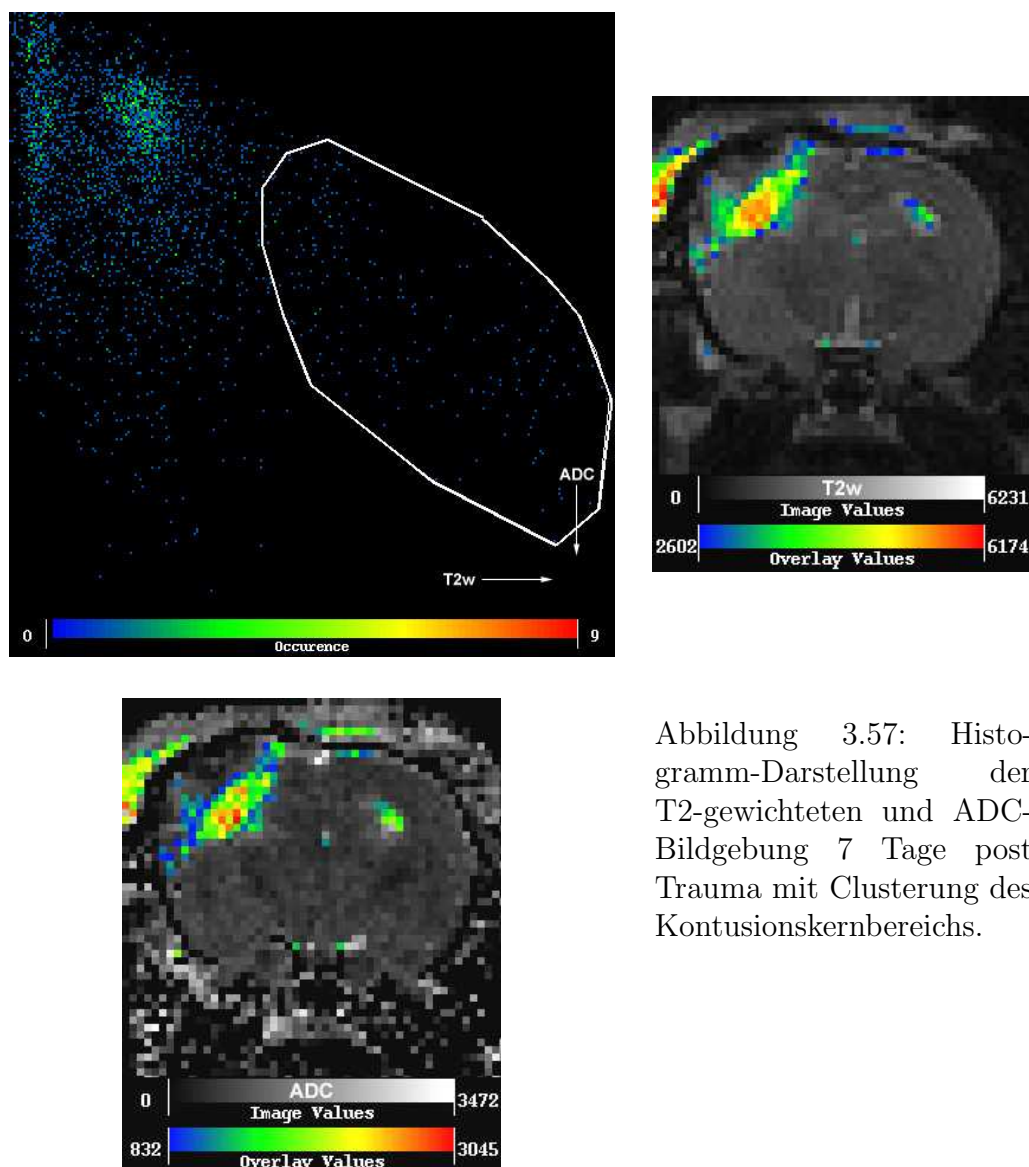


Abbildung 3.57: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 7 Tage post Trauma mit Clusterung des Kontusionskernbereichs.

Nach 7 Tagen war nur noch ein diffuser, wenig zusammenhängender Gewebecluster auszumachen, der sich bis in den unteren rechten Quadranten des Histogramms, also bis auf maximale T2- und ADC-Werte, erstreckte und eine breite Intensitätsverteilung zeigte. Die zunehmende Streuung der Intensitätspaare (T2-Wichtung, ADC) bedingte auch eine Abnahme dieser Tuppelhäufigkeiten, im Bild durch den Übergang der zumeist grünen in blaue Punkte, die entsprechend der Farbverlaufsskala am Bildunterrand geringere Häufigkeiten symbolisierten (Abbildung 3.57).



## Kontusionsrand

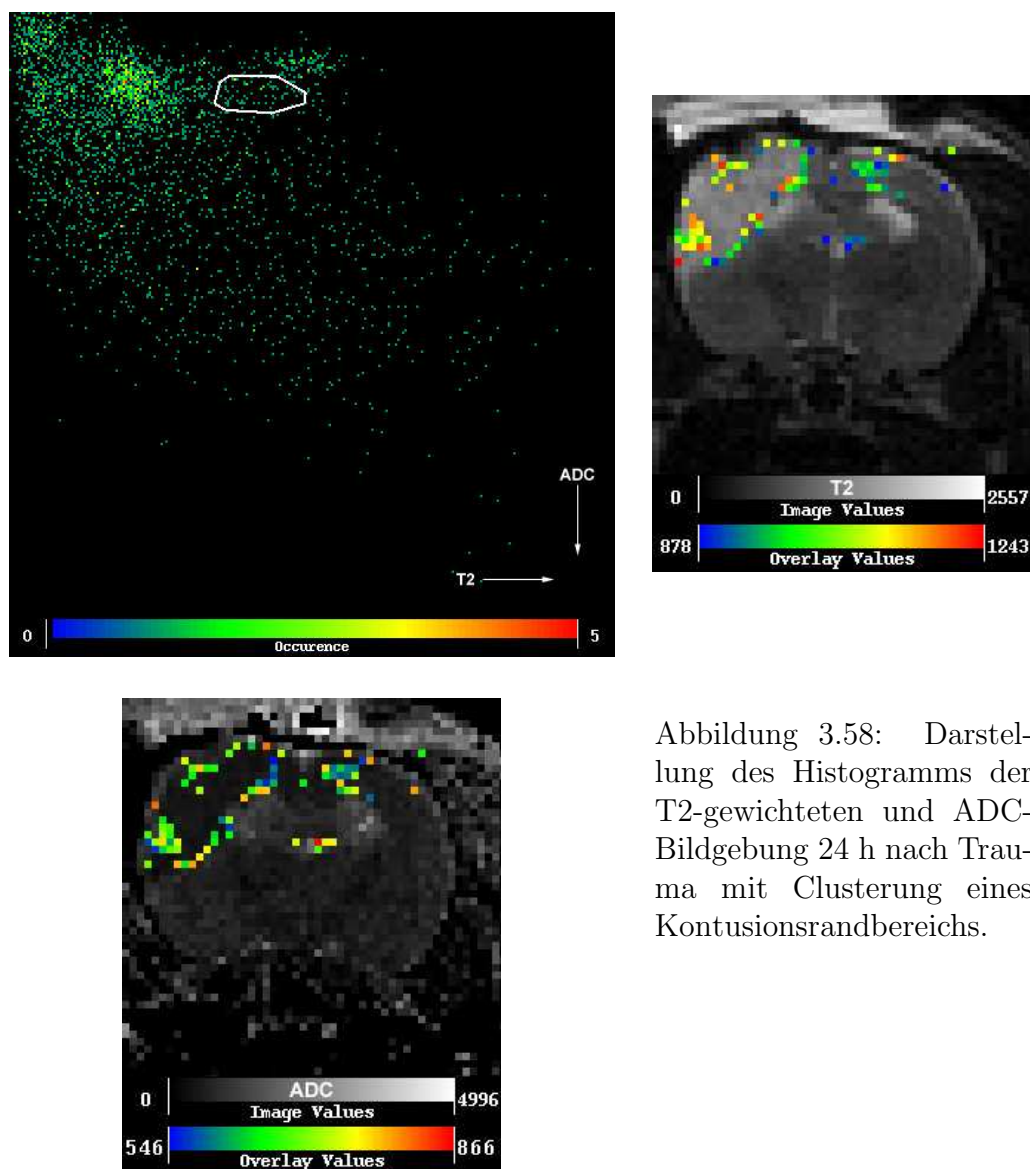


Abbildung 3.58: Darstellung des Histogramms der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 24 h nach Trauma mit Clusterung eines Kontusionsrandbereichs.

Neben dem Kontusionskernbereich, wie er in den Abbildungen 3.53 - 3.57 dargestellt ist, ließen sich zu den Zeitpunkten 90 Minuten, 6, 24 und 48 Stunden nach Trauma zusätzlich noch eine diesen Kernbereich umgebende Randzone abgrenzen (Abbildung 3.58). Diese Randzone zeichnete sich gegenüber dem Kernbereich (s. Abbildung 3.55) durch geringere T2-Intensitäten und erhöhte ADC-Werte aus.

## Nicht-traumatisiertes Gewebe

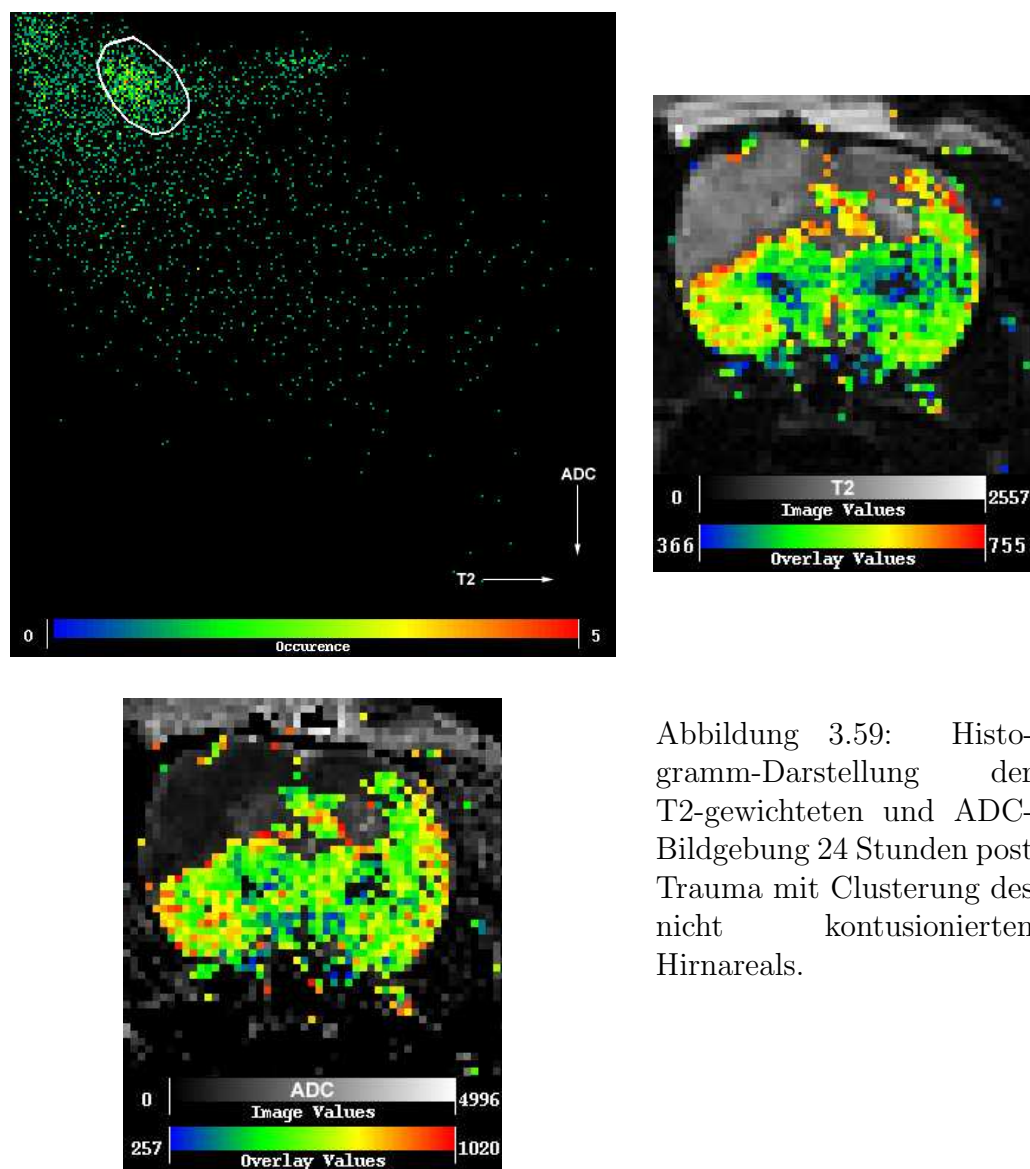


Abbildung 3.59: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 24 Stunden post Trauma mit Clusterung des nicht kontusionierten Hirnareals.

Der nicht-traumatisierte Hirnanteil ist unter Aussparung der Ventrikel (Abbildung 3.60) und Teile der Basalganglien (Abbildung 3.61) in einem weitgehend homogenem Cluster abzugrenzen.

## Ventrikel

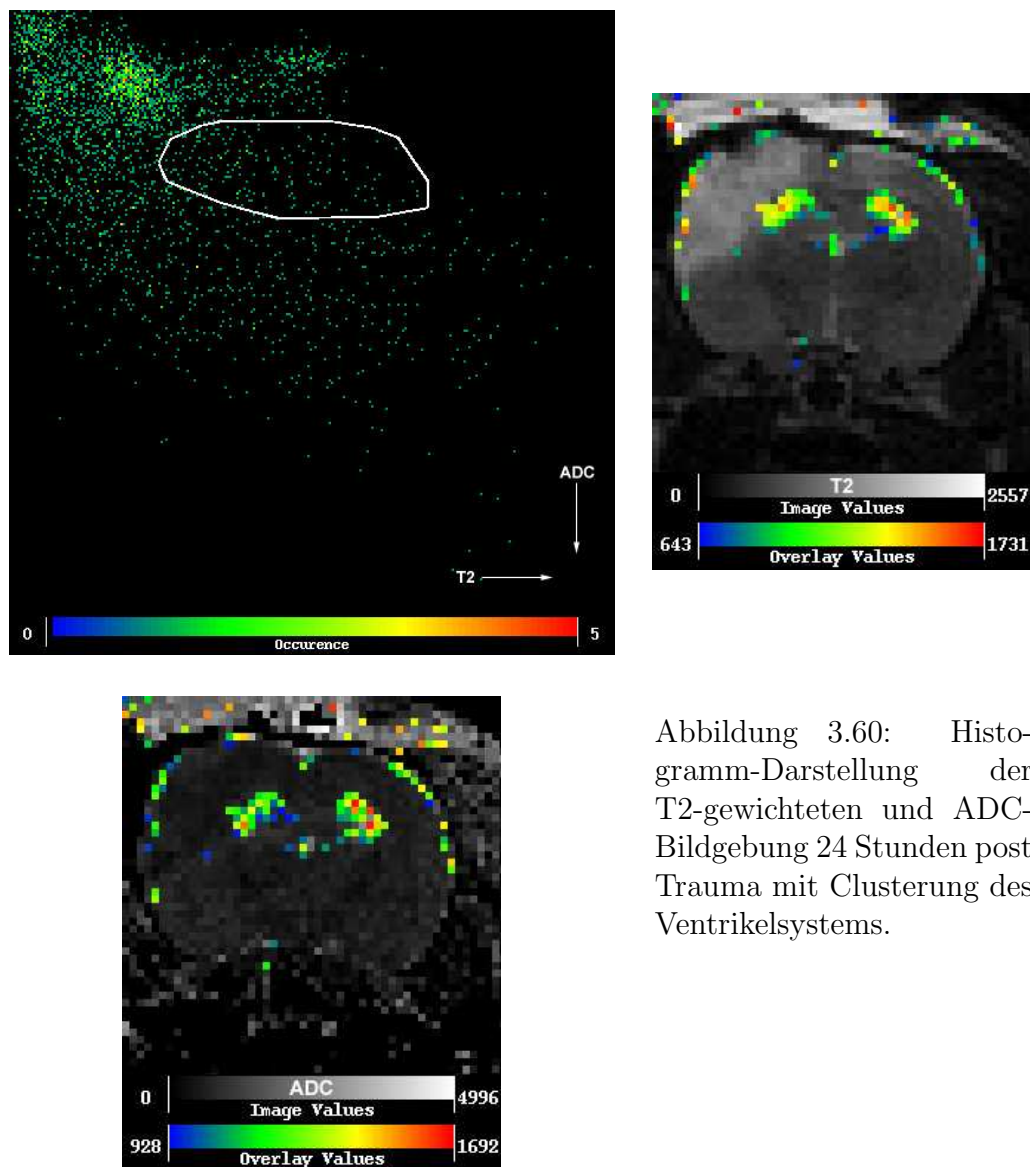


Abbildung 3.60: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 24 Stunden post Trauma mit Clustering des Ventrikelsystems.

Die inneren und z. T. auch äußeren Liquorräume stellen sich im Bereich erhöhter T2-Intensitäten und aufgrund der erhöhten Diffusionskonstante freier Flüssigkeiten zu hohen ADC-Werten hin dar (Abbildung 3.60). Aufgrund einer Foramen Monroi-Blockade stellt sich der im Vergleich zum Ventrikel der Kontusionsseite kontralaterale Ventrikel leicht vergrößert dar (s. Abbildung 3.46).



## Basalganglien

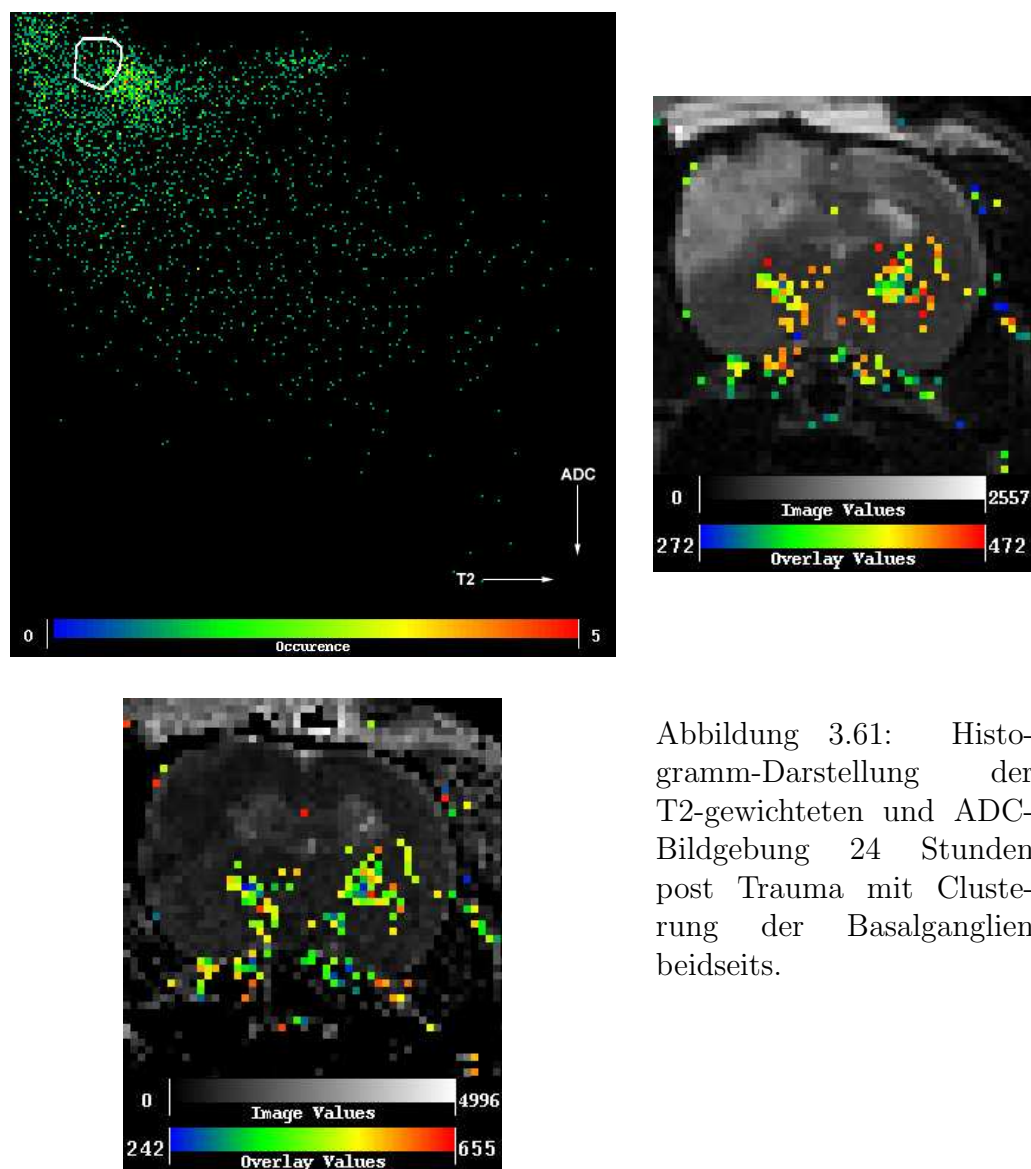


Abbildung 3.61: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und ADC-Bildgebung 24 Stunden post Trauma mit Clustering der Basalganglien beidseits.

Die Basalganglien bildeten einen nur unscharf begrenzten Cluster im Bereich geringer T2-Intensitäten und ADC-Werte (Abbildung 3.61).

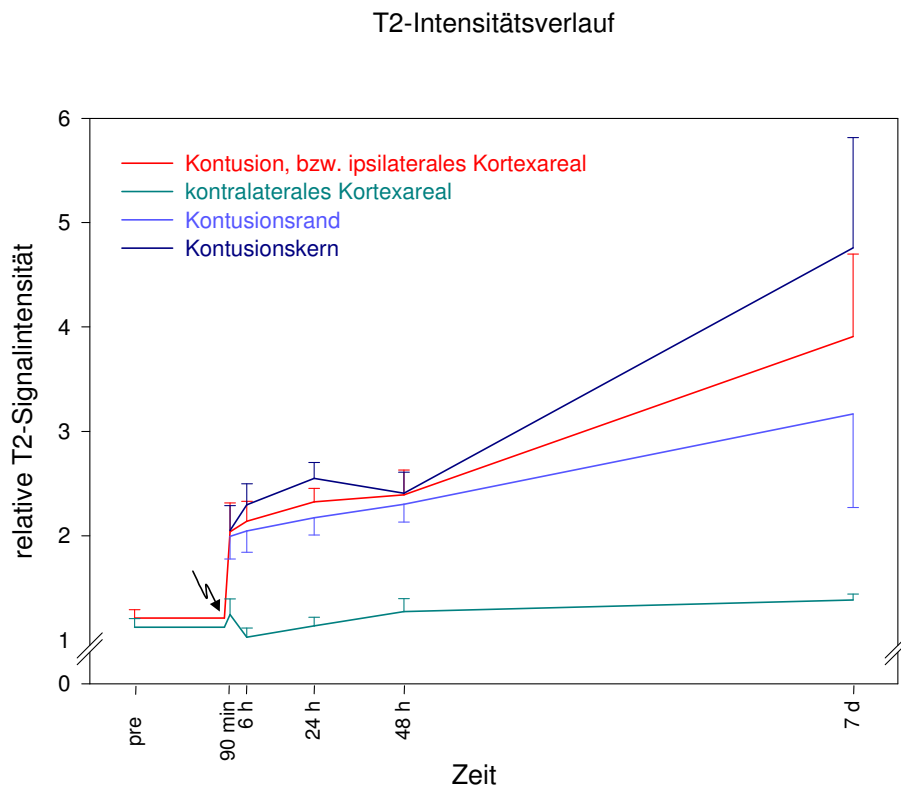


Abbildung 3.62: Relativer T2-Intensitätsverlauf über 7 Tage. Dargestellt ist die Kontusionszone (rot), unterteilt in einen Randbereich (hellblau) und ein zentrales Kernareal (dunkelblau). Vergleichend dazu der Intensitätsverlauf des nichtkontusionierten, kontralateralen Kortex (grün). Der Pfeil kennzeichnet den Traumazeitpunkt.

Abbildung 3.62 zeigt die aus der Clusterung gewonnenen, relativen T2-Intensitäten verschiedener Hirnareale 24 Stunden vor der kontrollierten kortikalen Kontusion (pre), sowie 90 Minuten, 6, 24, 48 Stunden und 7 Tage nach dem Trauma. Der kontralaterale Kortexbereich zeigte über dem gesamten Verlauf keine signifikante Änderung der T2-Intensitäten. Der vor der Kontusion hinsichtlich der T2-Intensität nicht signifikant unterschiedliche ipsilaterale Bereich stieg nach Trauma sprunghaft an und erfuhr einen signifikanten, streng monotonen Anstieg der T2-Intensitäten bis zum Zeitpunkt 7 Tage nach Trauma. In diesem Kontusionsareal ließ sich bildmorphologisch ein Kernbereich von einer diesen Kernbereich umgebenden Randzone abgrenzen. Der Randbereich differierte nach 6 und 24 Stunden signifikant von diesem Kernbereich. Die Intensitäten des Randbereichs stiegen von 6 auf 48 Stunden nach Trauma signifikant an. Innerhalb des Kernbereichs konnte ebenfalls von 90 Minuten auf 24 Stunden nach Trauma ein signifikanter Anstieg der Intensitäten festgestellt werden.

Abbildung 3.63 zeigt in Analogie zur Abbildung 3.62 die ADC-Veränderung aus den Clusterungen der T2-Wichtung und den ADC-Maps der 7-Tage-Verlaufsstudie. Die ADC-Werte der kontralateralen Kortexseite zeigten im Verlauf keine Änderungen im Vergleich zum Ausgangswert, bzw. untereinander. Das Gesamt-Kontusionsareal zeigte im Zeitraum von 90 Minuten bis 48 Stunden ebenfalls im Vergleich zum Ausgangswert keine signifikanten Änderungen der ADC-Werte. Die Subanalyse unterschiedlicher Anteile der Kontusionsareale ergab für den Kernbereich einen Abfall der ADC-Werte vom Ausgangswert bis

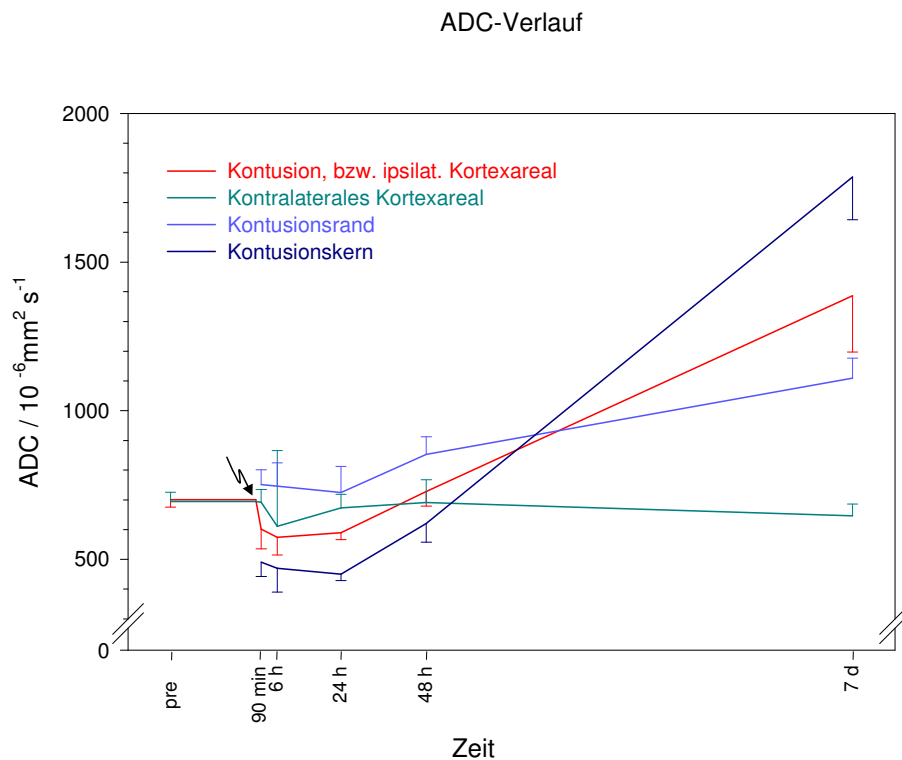


Abbildung 3.63: ADC-Verlauf über 7 Tage. Dargestellt ist die Kontusionszone (rot), unterteilt nach einem Randbereich (hellblau) und einem zentralen Kernareal (dunkelblau). Vergleichend dazu der Intensitätsverlauf des nichtkontusionierten, kontralateralen Kortex (grün).

zu 24 Stunden nach Trauma. Im weiteren Zeitverlauf ließ sich von 24 auf 48 Stunden und von 24 Stunden auf 7 Tage nach Trauma dann ein Anstieg der ADC-Werte verzeichnen. Die ADC-Werte des Kontusionskerns divergierten zu allen Meßzeitpunkten signifikant gegenüber denen der Randzone.

### 3.7.2 Histogramm aus T2-/T1-Wichtung

#### Kontusions-Kernbereich

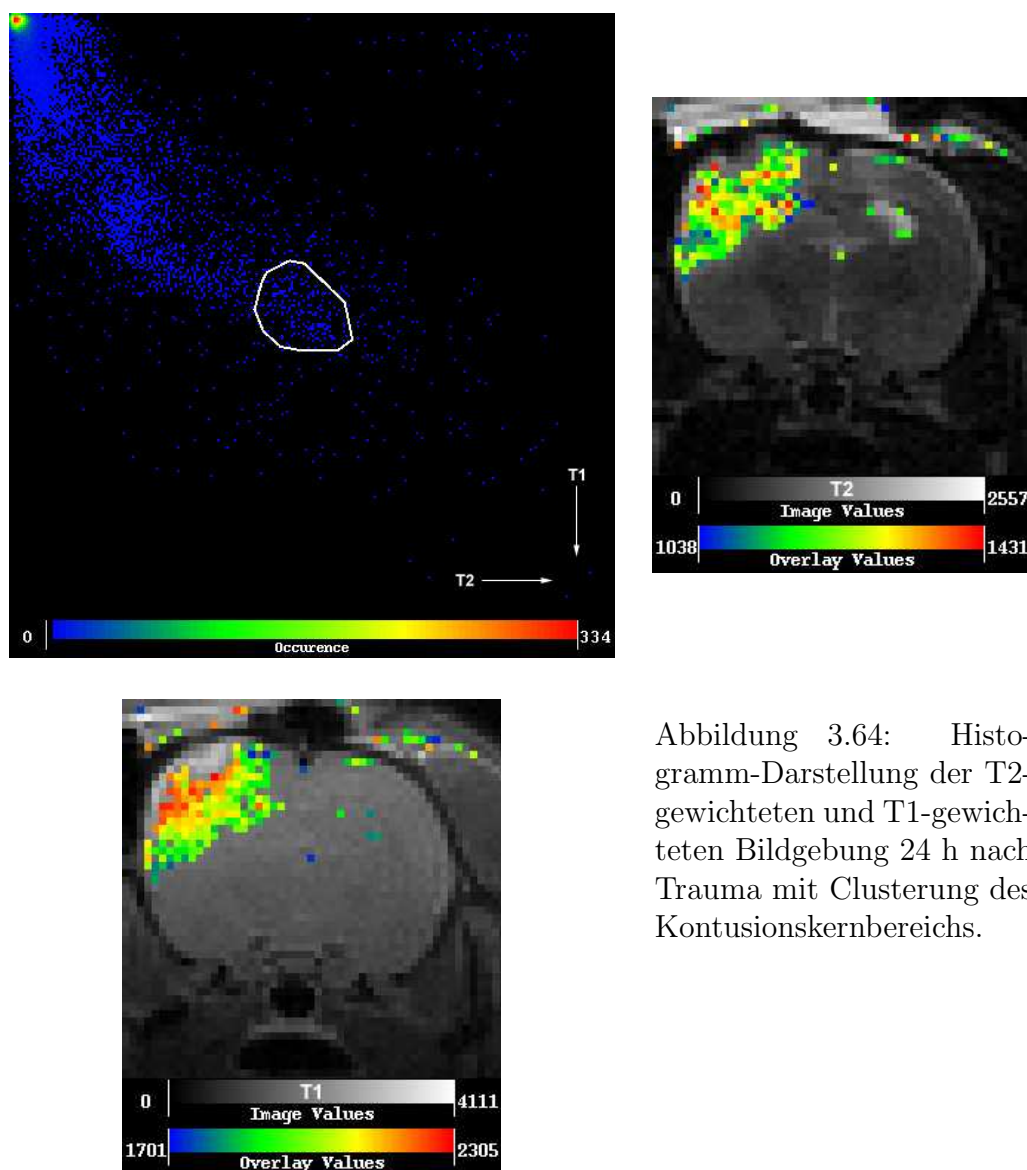


Abbildung 3.64: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und T1-gewichteten Bildgebung 24 h nach Trauma mit Clusterung des Kontusionskernbereichs.

In einer weiteren Analyse wurde die Clusterung von T2-Wichtung und der T1-Wichtung durchgeführt. In dieser Darstellung ließ sich der Kontusionskernbereich anhand der erhöhten T2- und T1-Werte abgrenzen. Hinsichtlich der T1-Werte lag der Clusterbereich in diesem Histogramm unerwartet hoch. Der Vergleich mit den nativen T1-gewichteten Bildern (Abbildung 3.48) und Graphik 3.50 gab Hinweis auf einen noch verbleibenden Kontrastmittelrest im Kontusionsareal, der auch 18 Stunden nach der vorausgehenden Messung, der 6 Stunden-Messung nach Trauma, noch nachweisbar war. In dem Histogramm der 90-Minuten-Bilder, dem keine Kontrastmittelapplikation vorausging, war dieses Areal entsprechend zu geringeren T1-Intensitäten hin lokalisiert.

## Kontusionsrand

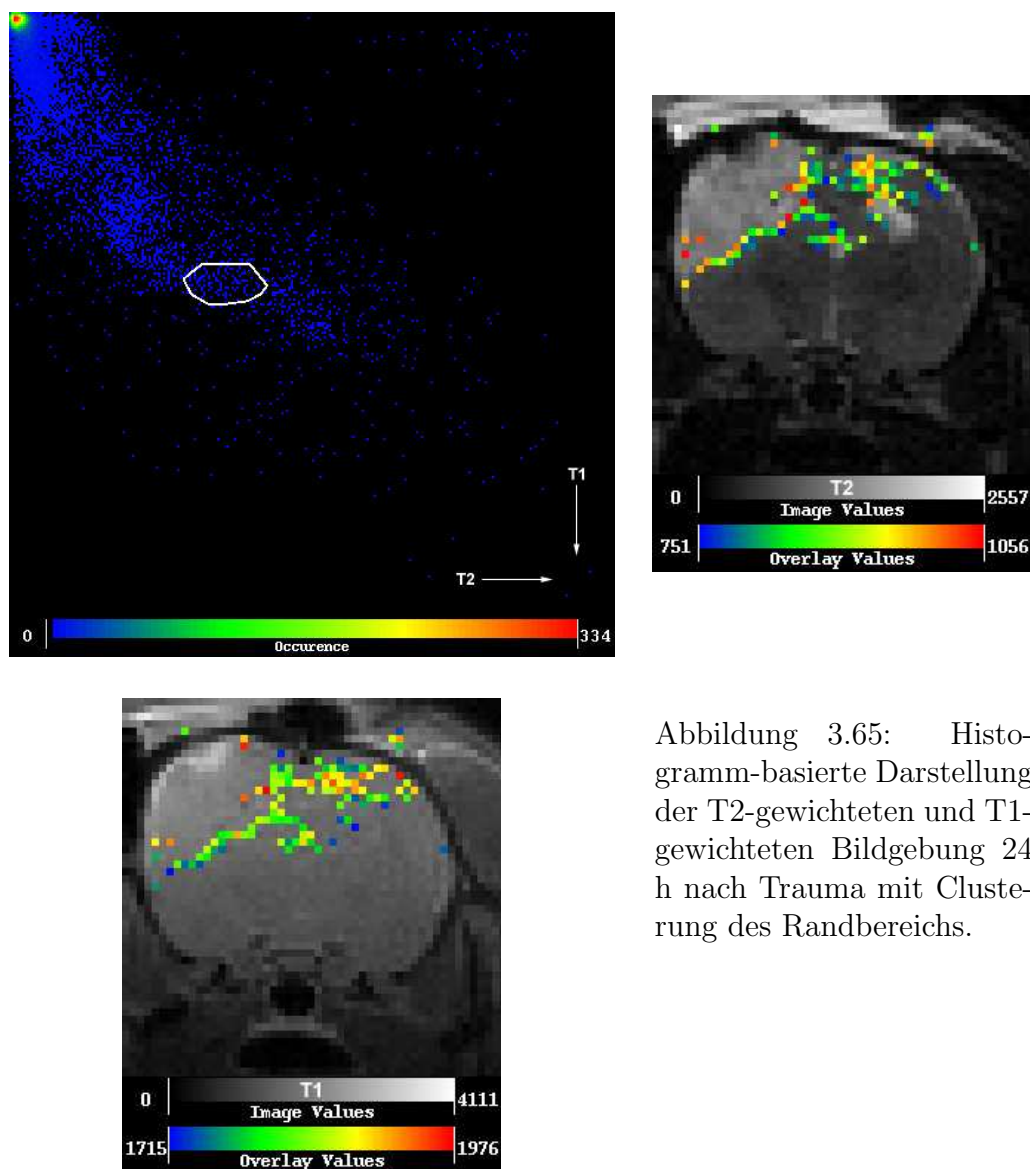


Abbildung 3.65: Histogramm-basierte Darstellung der T2-gewichteten und T1-gewichteten Bildgebung 24 h nach Trauma mit Clustering des Randbereichs.

Entsprechend der Differenzierung eines Kontusionsrandbereichs in dem T2-Wichtung/ADC-Histogramm (s. Abbildung 3.58) ließ sich auch in einem Histogramm der T2- und T1-Wichtungen eine Übergangszone darstellen. Diese trennte den Kontusionskern von gesunden Hirnarealen, sparte dabei aber die kortexoberflächennahen Bereiche aus und zeichnete sich gegenüber der Kontusion um leicht erniedrigte T1-Werte aus.

## Hämorrhagischer Randsaum

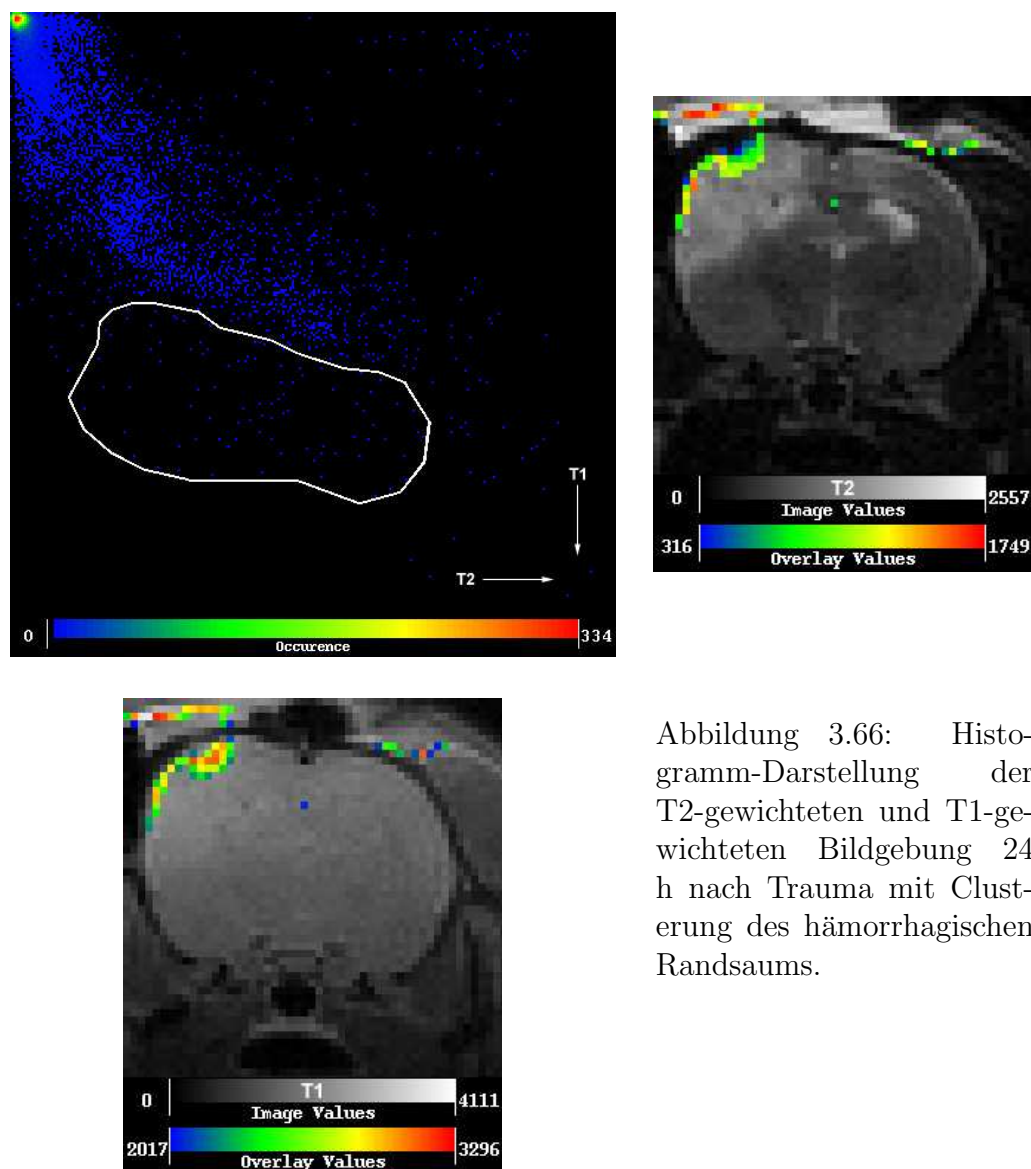


Abbildung 3.66: Histogramm-Darstellung der T2-gewichteten und T1-gewichteten Bildgebung 24 h nach Trauma mit Clustierung des hämorrhagischen Randsaums.

In der T1-gewichteten Bildgebung stellte sich der kortexoberflächennahe Randsaum hyperintens dar. Er erschien in der T2-Wichtung wenig homogen und zeigte eine breite Streuung, so daß dieses Areal nicht scharf geclustert werden konnte.



### 3.7.3 T1-gewichtete Bildgebung

T1-Wichtung/post-Kontrast-T1-Wichtung, 24 Stunden nach Trauma, Kontusion

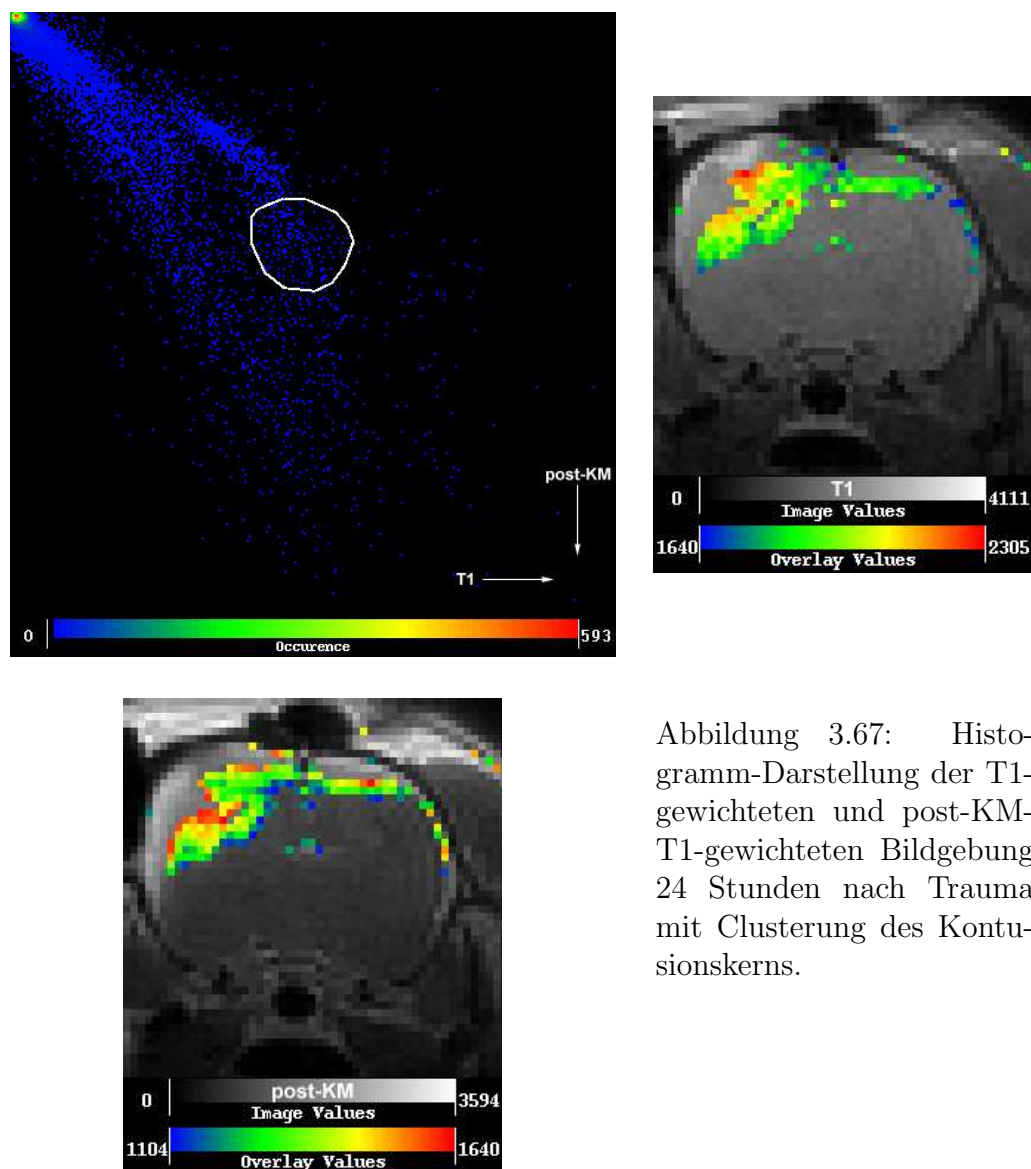


Abbildung 3.67: Histogramm-Darstellung der T1-gewichteten und post-KM-T1-gewichteten Bildgebung 24 Stunden nach Trauma mit Clusterung des Kontusionskerns.

Der kontrastmittelaufnehmende Kontusionsbereich zeigte eine recht inhomogene Intensitätsverteilung, beginnend von stark kontrastierten, oberflächennahen Strukturen bis hin zur Hippocampusformation abflauend. Dementsprechend zeigte der hier selektierte Bereich in den 'overlays' eine breite Intensitätsverteilung.

## T1-Wichtung/post-KM-T1-Wichtung, 24 Stunden nach Trauma, hämorrhagischer Randsaum

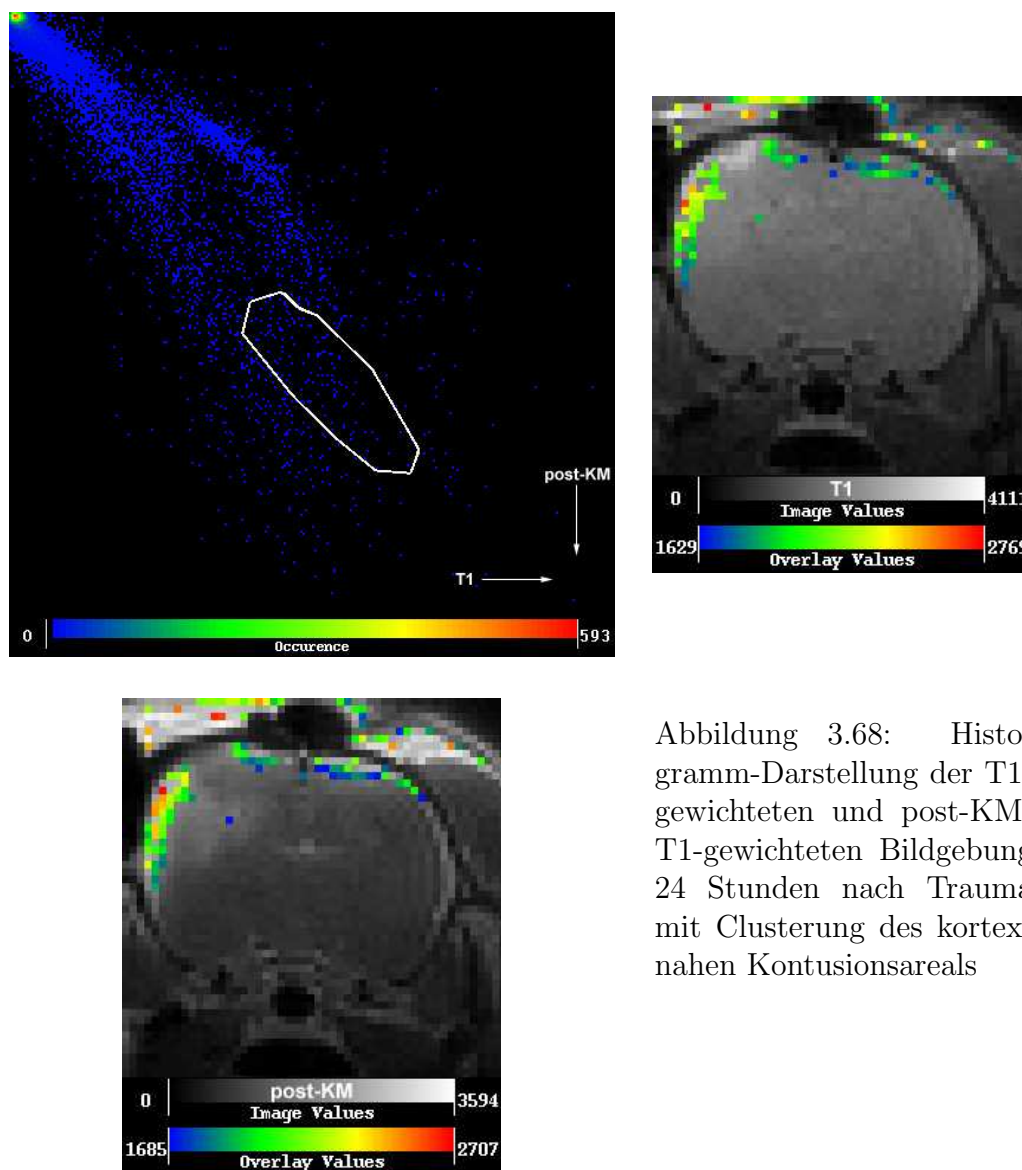


Abbildung 3.68: Histogramm-Darstellung der T1-gewichteten und post-KM-T1-gewichteten Bildgebung 24 Stunden nach Trauma mit Clusterung des kortex-nahen Kontusionsareals

Die bereits im nativen T1-gewichteten Bild dargestellte hyperintense Randstruktur ließ sich im Areal hoher T1-gewichteter und post-KM-T1-gewichteter Intensitäten selektieren.

### Kontrastmittelextravasation, Zeitverlauf

Abbildung 3.69 zeigt die Dynamik der Kontrastmittelextravasation vom Nativbild beginnend über die Zeitpunkte 10, 20, 30, 40 Minuten nach Kontrastmittelgabe anhand der Histogrammdarstellung. Die Diagonale im ersten Histogramm beschreibt die Identität zweier gleicher Bilder, hier jeweils das native T1-gewichtete Bild. Im Verlauf streuten diese Punkte nun aus der Diagonale heraus in den unteren linken Quadranten hinein. Diese 'off-line' Drift entspricht der zunehmenden Kontrastmittelextravasation.



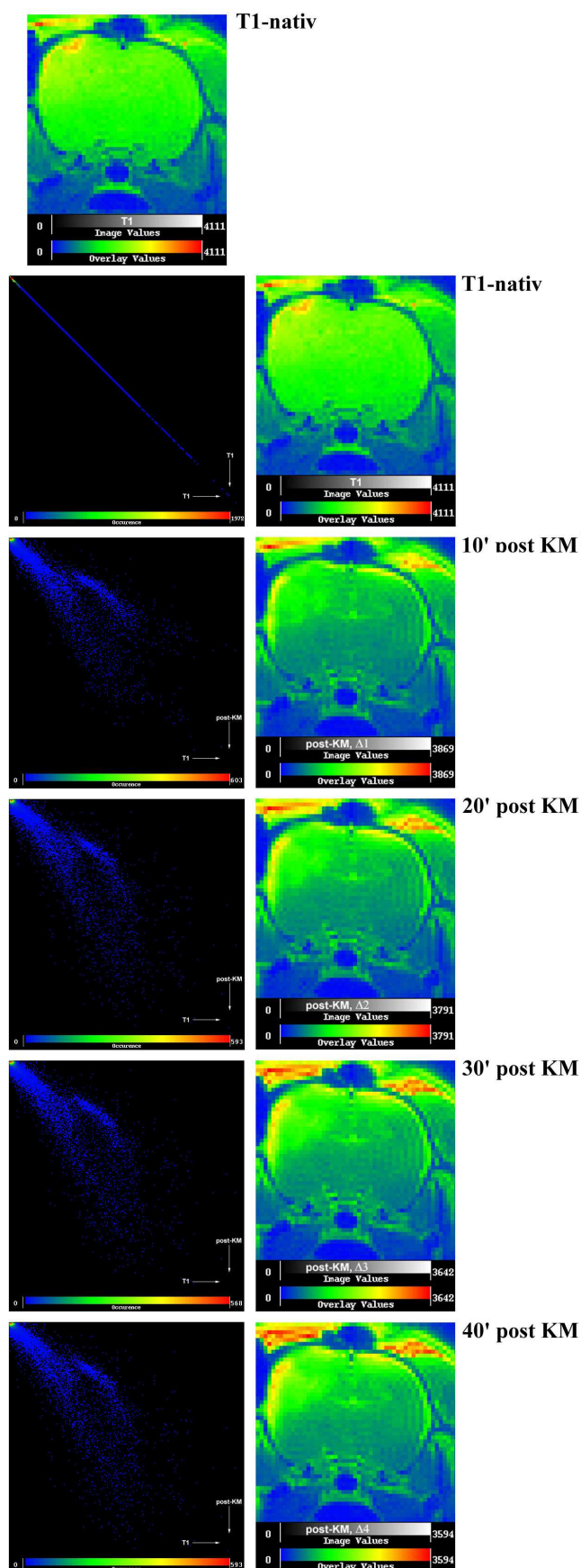


Abbildung 3.69: Die hier dargestellten Histogramme (linke Spalte) wurden paarweise aus dem nativen T1-gewichteten Bildes (oben) und - der Reihe nach - dem nativen T1-gewichteten Bild sowie den post-KM-T1-gewichteten Bildern, jeweils 10, 20, 30 und 40 Minuten nach Kontrastmittelgabe erzeugt (rechte Spalte). Das erste Histogramm zeigt als triviale Gegenüberstellung des T1-gewichteten Bildes mit sich selbst durch die Histogramm-Diagonale die Identität der Bilder. Nach KM-Gabe zeigt sich über den Zeitraum von 40 Minuten gegenüber dem Nativbild die zunehmende Kontrastmittelextravasation. Dieses stellt sich im Histogramm durch die vermehrte 'off-line'-Drift, also dem Auswandern der Pixelpaare aus der Diagonale, dar. Damit ist die Quantifizierung der Kontrastmittelextravasation möglich.

### 3.7.4 DWI–Bildgebung

In analoger Weise zur Dynamik der Kontrastmittelextravasation läßt sich auch die ansteigende Diffusionswichtung in der Histogrammdarstellung als zunehmende 'off-line' Drift darstellen (Abbildung 3.70). Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 3.71 die diffusionsgewichteten Einzelbilder dreier anatomisch aufeinanderfolgender Schichten mit  $b_0 = 1$ ,  $b_1 = 500$  und  $b_2 = 1200 \text{ s/mm}^2$ . Es kam zu einem relativen Signalzuwachs in der Kontusionszone, der aus dem deutlich verstärkten Intensitätsabfall des periläsionellen Gewebes resultierte. Daß auch das absolute Signal in der Kontusionszone abfiel, zeigten die berechneten ADC-Maps, in denen die Läsion dunkel erschien. Somit ist der aufhellende Effekt in den diffusionsgewichteten Schichten kein reiner 'T2-shine-through' Effekt.

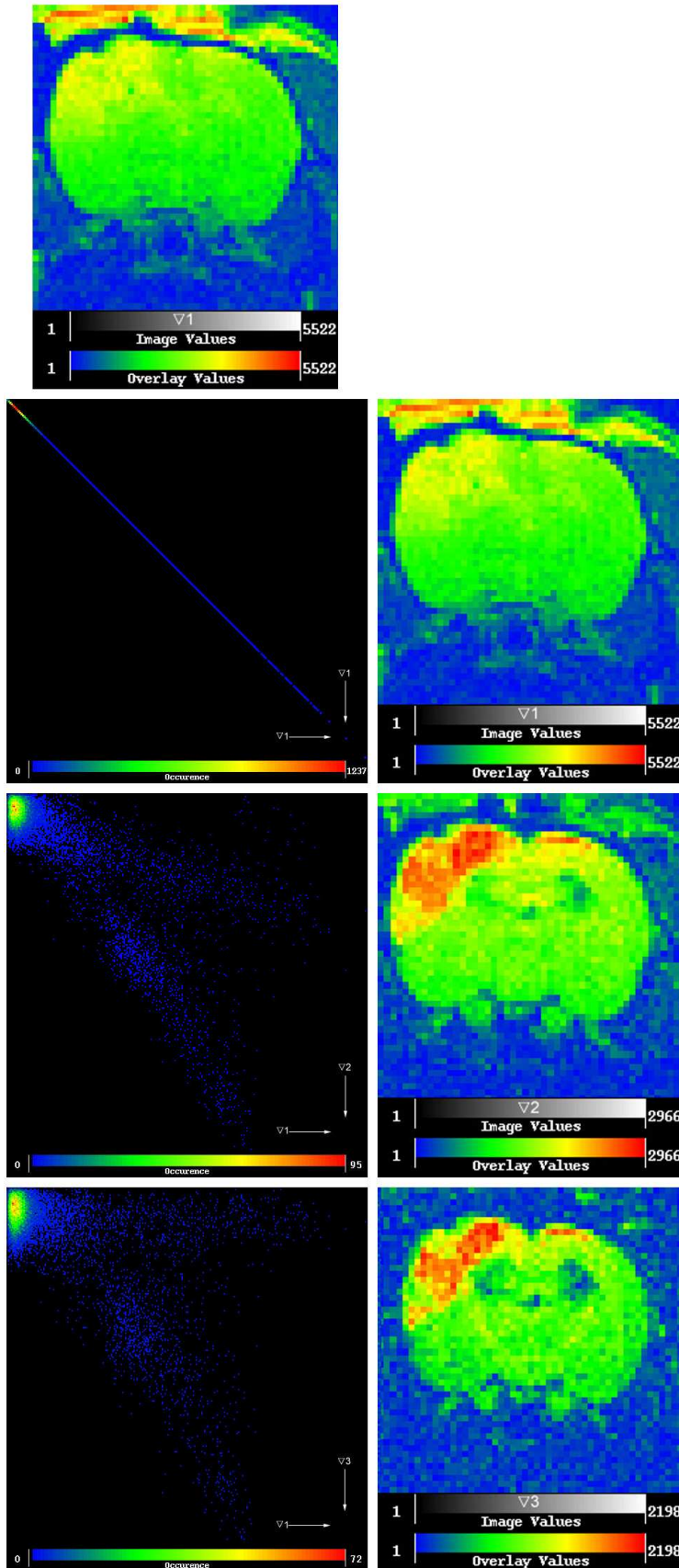


Abbildung 3.70: Histogramme der jeweils unterschiedlich stark gewichteten Diffusionsbildgebung mit den Gradientenstärken  $g_{d1} = 1$  mT/m,  $g_{d2} = 29$  mT/m und  $g_{d3} = 45$  mT/m (rechte Spalte) und dem gering gewichteten Bild mit  $g_{d1} = 1$  mT/m (oben). Die zunehmende 'off-line' Drift veranschaulicht den zeitlichen Zuwachs der Diffusion. Zur Darstellung vergleiche Abbildung 3.69.

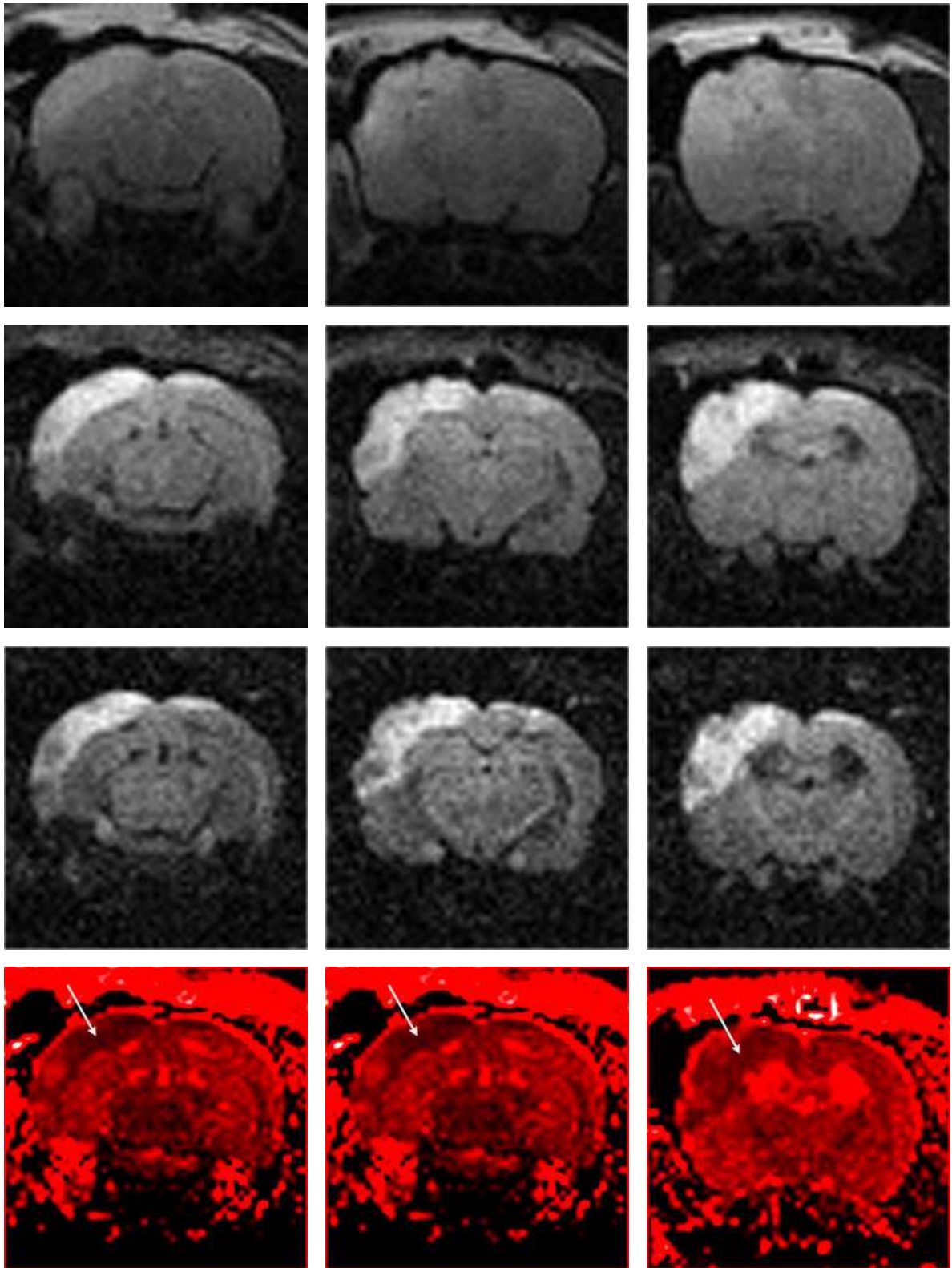


Abbildung 3.71: Diffusionsgewichtete Bilder dreier aufeinanderfolgender Schichten (spaltenweise angeordnet), in jeweils unterschiedlich starker Diffusionswichtung (zeilenweiser Zuwachs). Die unterste Zeile zeigt die berechneten ADC-Maps. Die tiefvioletten/schwarzen Areale kennzeichnen Areale niedrigerer Diffusionskonstanten ( $\rightarrow$ ), hellrote Areale (z. B. Ventrikel) hohe Diffusionskonstanten.

# Kapitel 4

## Diskussion

### 4.1 Zerebrales Trauma

#### 4.1.1 Kontusionsmodell

Das menschliche Schädel-Hirn-Trauma ist eine wenig homogene Krankheitsentität, die je nach Unfallhergang verschiedene bzw. unterschiedlich stark ausgeprägte pathomorphologische und pathophysiologische Aspekte umfaßt. Zur Untersuchung der pathophysiologischen und pathobiochemischen Zusammenhänge der traumatischen Hirnläsion sind zahlreiche tierexperimentelle Modelle entwickelt worden.

Das grundlegende Kriterium für tierexperimentelle Studien sowie der Evaluation neuroprotektiver Substanzen im Tierexperiment besteht daher in der Relevanz und Übertragbarkeit dieser Daten auf die Situation des menschlichen Schädel-Hirn-Traumas. Desweiteren muß neben dem apparativen und finanziellen Aufwand vor allem der ethische Aspekt berücksichtigt werden, wonach an möglichst wenigen Individuen valide Daten zu erheben sind, die klinisch relevanten Teilaspekten Rechnung tragen sollen.

Dieses gilt es sowohl bezüglich der Art der Traumainduktion als auch der Auswahl der Tierspezies zu beachten.

#### Traumamodelle

Die ersten systematischen Arbeiten zum experimentellen Hirntrauma stammen von Denny-Brown und Russell ([Denny-Brown & Russell, 1941](#); [Denny-Brown, 1945](#))<sup>1</sup>. Anhand dieser Arbeiten, sowie zahlreicher Weiterentwicklungen lassen sich im wesentlichen drei unterschiedliche Prinzipien der Traumamodelle unterscheiden ([Gennarelli, 1994](#); [Lighthall et al., 1989](#)):

- (1) mechanischer Schlag gegen den Schädel ('head impact model'),
- (2) Akzeleration des nicht fixierten Kopfes ('head acceleration model'),
- (3) direkte Hirndeformation ('direct brain deformation').

---

<sup>1</sup>Historisch interessant ist in diesem Zusammenhang die Arbeit von [Witkowski, 1877](#), der die Gehirn-erschütterung ursächlich zwischen einer Störung des Hirnparenchyms und der zerebralen Mikrozirkulation zu differenzieren versuchte.



Die sogenannten *'head-impact'*-Modelle, in denen durch eine definierte, direkte Prellung des nicht restringierten Kopfes ein breites zerebrales Verletzungsmuster erzeugt wird, sind im wesentlichen in aufwendigen Studien an Primaten durchgeführt worden. Die schwierige biomechanische Charakterisierung des Modells und die eingeschränkte Reproduzierbarkeit einer definierten Traumastärke sind wesentliche Kritikpunkte des Modells. Die Anwendung an der Ratte sind aufgrund eines ausgesprochen steilen Verlaufs der Traumataoleranzkurve und der eingeschränkten klinischen Relevanz des Verletzungsmusters wieder verlassen worden.

Bei den *Akzelerationsmodellen*, die im Gegensatz zu den *'head impact'*-Modellen keine Schädel-(Basis-)Frakturen erzeugen, erfolgt die Kontusionierung durch die plötzliche Dezeleration eines Rahmens, in dem der Körper, bei freier Kopfbewegung, fest fixiert wird. Die in diesem Modell erhobenen Daten, insbesondere die histopathologischen Auswertungen zeigen eine gute Korrelation zu der klinischen Situation beim Menschen. Aufgrund der analogen Anatomie von Gehirn, Hirnstamm und Rückenmark und vergleichbaren Kräfteverhältnissen wurde dieser Schleudertraumamechanismus aber vornehmlich an nichtmenschlichen Primaten simuliert, und ist demnach für größere Untersuchungsreihen ungeeignet.

Neben den bisher genannten Methoden wurden die direkten Hirnkontusionsmodelle (*'direct brain deformation'*) entwickelt, bei denen nach vorausgegangener Trepanation eine direkte Kontusion der Hirnoberfläche erzeugt wird. Damit entfällt der spezielle Einfluß, den die Anatomie und Geometrie des Kopfes/Halses in den zuvor genannten Traumamodellen auf den Verletzungsmechanismus einnimmt. Anstelle der aufwendigen Versuche an Primaten wurden diese Modelle vornehmlich an Nagetieren durchgeführt. Die gute Analogie der funktionellen, pathophysiologischen und histopathologischen Daten zu den klinischen Gegebenheiten führte zu einer intensiven Anwendung der im folgenden beschriebenen Modelle.

In dem sogenannten *'weight drop'*-Modell wird durch ein aus definierter Höhe herabfallendes Gewicht eine Kontusion hervorgerufen. Dieses Modell hat in verschiedenen Modifikationen eine breite Anwendung gefunden. Während in der Arbeit von [Feeney et al., 1981](#) eine direkte Kontusion des freiliegenden Kortex durchgeführt wurde, induzieren [Shapira et al., 1988](#) eine umschriebene, ipsilaterale Kontusion durch einen unilateralen Schlag auf die Kalotte. In der Modifikation nach Foda und Marmarou ([Foda & Marmarou, 1994](#); [Marmarou et al., 1994](#)) fällt das Gewicht auf eine zentral in Höhe des Bregmas auf dem Schädel fixierte Stahlplatte. Diese verhindert die Fraktur der Kalotte und ermöglicht über die enge Ankopplung an den Knochen einen effektiven Energietransfer über den ganzen Schädel, wodurch eine diffuse Hirnschädigung erzielt wird.

In dem *'fluid percussion'*-Modell wird über eine kurz andauernde Druckstoßwelle, vermittelt über eine Flüssigkeitssäule, die über ein Kalottenbohrloch Kontakt mit der Duraoberfläche im Vertexbereich hat, eine zerebrale Kontusion erzeugt ([Lindgren & Rinder, 1965](#)). Vornehmliches Korrelat dieses Traumamechanismus ist der subkortikale Axonschaden und die Hirnstamm-Kontusion. Ein Hauptaspekt des Schädel-Hirn-Traumas beim Menschen ist die kortikale Kontusion, die von den *'fluid percussion'*- und *'weight drop'*-Modellen in nur geringem Umfang erreicht wird. Eine Schwierigkeit dieser Modelle besteht desweiteren in der unzureichenden biomechanischen Kontrolle der einwirkenden Stoßkräfte.

Das in der vorliegenden Arbeit genutzte *'controlled cortical impact injury'*-Modell vermag beide Limitierungen zu umgehen. Wie Abbildung 3.2 zeigt, findet sich bei diesem Modell

eine gute Beschreibung der Kontusionsparameter bei insgesamt hoher Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Wesentliches pathomorphologisches Korrelat der Verletzung (siehe Abbildung 3.46) ist die umschriebene zerebrale Kontusionsverletzung mit Bildung zytotoxischer und vasogener Ödemanteile, Blut-Hirn-Schranken-Läsion und Mittellinienverlagerung.

An dieser Stelle sei auch noch das sogenannte Kryoläsionsmodell nach Klatzo, 1967 erwähnt. Im Gegensatz zu den bisher erörterten Modellen wird hier keine mechanische Kontusion gesetzt. Die zerebrale Läsion wird durch eine umschriebene Vereisung eines Cortexareals hervorgerufen. Dieses Verfahren diente lange Zeit als ein weiteres Modell zur Untersuchung des Schädel-Hirn-Traumas, da das hier erzeugte, vasogene Hirnödem auch als die prädominante Ödemform infolge der Blut-Hirn-Schrankenstörung des Schädel-Hirn-Traumas angesehen wurde.

Die zahlreichen Aspekte und Facetten des (Schädel-)Hirn-Traumas lassen sich somit nicht von einem einzigen Modell beschreiben, sondern werden von den jeweiligen Modellen in unterschiedlicher Ausprägung erfaßt (siehe Abbildung 4.1).

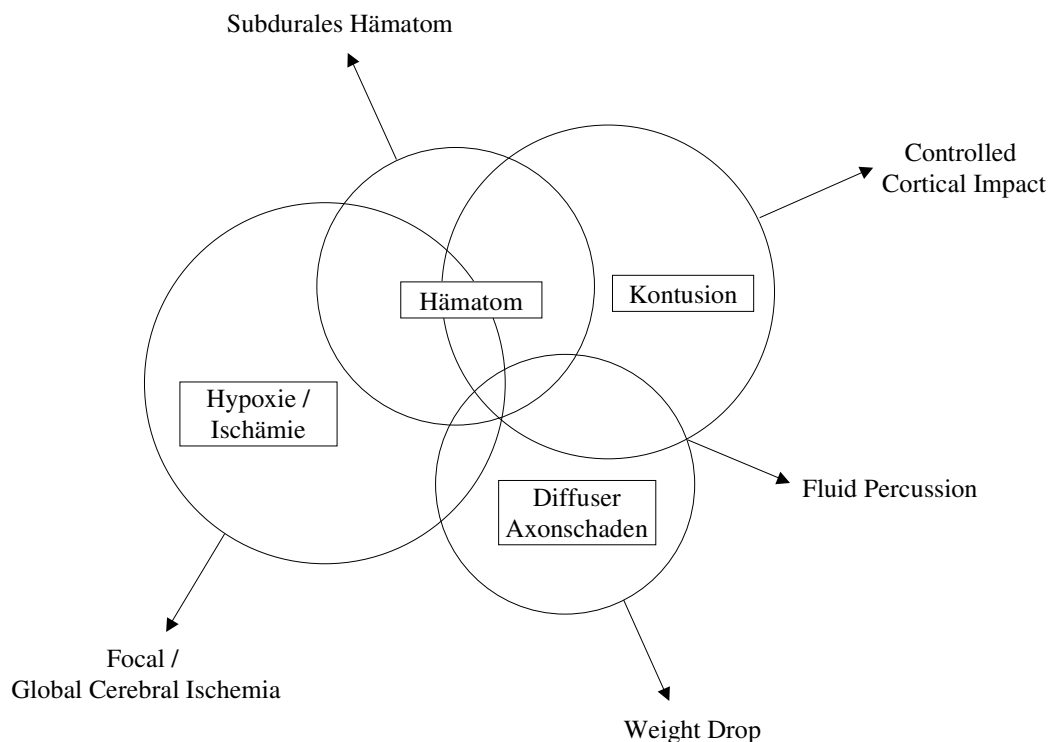


Abbildung 4.1: Wichtige Faktoren des Schädel-Hirn-Traumas und ihre Imitation durch verschiedene Traumamodelle, aus Bullock, 1993.

## Tierspezies

Für die Durchführung der Untersuchung an der Ratte sprechen:

- (1) die hohe Standardisierbarkeit durch genetische Konstanz und genaue Angaben zum Alter und Gewicht der Tiere,
- (2) eine umfangreiche Datenlage hinsichtlich physiologischer und verhaltensbiologischer Parameter,

- (3) die weitgehende Kompatibilität hinsichtlich neurochemischer und molekularbiologischer Techniken zu phylogenetisch höheren Spezies,
- (4) die geringen Kosten der Tiere,
- (5) die hohe immunologische Stabilität der Tiere und
- (6) der niedrige Medikamentenverbrauch aufgrund des geringen Körpergewichtes.

Einschränkungen, die die Übertragbarkeit der Ergebnisse eingrenzen, erfährt das Rattenmodell jedoch durch die folgenden Punkte:

- (1) deutliche Unterschiede in der Gehirnstruktur und -masse der einzelnen Tiere,
- (2) Krampfpotential der Tiere, welche die Studienhomogenität verringert,
- (3) keine prolongierte Vigilanzreduktion („Bewußtlosigkeit“),
- (4) ein im Vergleich zu anderen Modellen wenig ausgeprägter diffuser Axonschaden,
- (5) die funktionelle Untersuchung komplexer oder subtiler Verhaltensdefizite ist nicht möglich.

#### 4.1.2 Narkose

Wichtiger Aspekt aller experimentellen Traumastudien sind die bei diesen Untersuchungen angewandten Narkotika, deren Einsatz einen direkt oder indirekt neuroprotektiven oder neurodestruktiven Effekt auf Verlauf und Größe der kortikalen Kontusion ausüben kann. Desweiteren spielt auch die Praktikabilität eine wichtige Rolle bei der Wahl adäquater Anästhesieformen.

Tiletamin/Rompun bzw. Ketamin/Rompun haben durch ihre leichte Handhabbarkeit als subkutan bzw. intramuskulär applizierbare Narkotika im Zusammenhang mit der Untersuchung neuroprotektiver Substanzen einen gewissen Einsatz erfahren und sind auch in den Vorversuchen dieser Arbeit eingesetzt worden. Sie sind aber durch ihre glutamatantagonistische Wirkung mit konsekutivem neuroprotektiven Effekt ([Shapira \*et al.\*, 1992](#)) und Steigerung des intrakraniellen Drucks ([Jantzen, 1994](#)) für diese Studien weniger gut geeignet.

Desweiteren ist die geringe, aber messbare Atemdepression infolge Tiletamin/Rompun-Anästhesie ([Wilson \*et al.\*, 1993](#)) mit Hypoventilation in ihrer Auswirkung auf die zerebrale Durchblutung nur schwer überschaubar. Dagegen wäre die kontrollierte Ventilation der Tiere nach endotrachealer Intubation mit Kontrolle der Blutgasparameter im Rahmen einer Inhalationsnarkose zwar geeignet, methodisch jedoch aufwendig. Aufgrund der für die Untersuchungen im Tomographen notwendigen, langen Narkoseschläuche mit schwer kalkulierbaren intraluminalen Druckabfällen sowie der hohen inspiratorischen Spitzendrücke bei volumenkontrolliert beatmeten Tieren mit der hohen Inzidenz bronchialer Sekretverlegung ist dieses technisch schwierig. Ferner ist eine wiederholte Intubation der Tiere in Verlaufsuntersuchungen aufgrund der schnellen Schleimhautschwellung infolge des Intubationsreizes kaum möglich.

Eine moderate Inhalationsnarkose bei hinreichender Analgesie der weiterhin spontanatmenden Tiere mit in der Blutgaskontrolle hinreichender Oxygenierung bei normokapnischen Parametern erwies sich insbesondere aufgrund der guten Steuerbarkeit als ideale



Narkosetechnik. Allerdings besitzen auch die in der klinischen Routine eingesetzten Inhalationsnarkotika wie Enfluran, Halothan, Isofluran und Desfluran kein zerebroneutrales Wirkungsspektrum. Dieses umfaßt einerseits eine zerebrale Vasodilatation (mit steigendem Ausmaß in der Reihenfolge: Halothan, Enfluran, Isofluran), die bei erhaltender Autoregulation mit konsekutiver Zunahme des zerebralen Blutflusses (CBF) und ICP einhergeht. Andererseits erfolgt eine Abnahme des zerebralen Metabolismus (mit stärkster Ausprägung bei Isofluran), mit daraus resultierender Abnahme des CBF, wobei sich diese Effekte teilweise kompensieren.

## 4.2 Magnetresonanztomographie

Auf den folgenden Seiten seien kursorisch die physikalischen Grundlagen der MR-Signalentstehung und der MR-Bildgebung erläutert. Auf dieser Grundlage sollen die besonderen Aspekte der in dieser Arbeit eingesetzten Bildgebungssequenzen diskutiert werden.

Atome mit ungerader Protonen- oder Neutronenzahl besitzen ein Kerndrehmoment bzw. Kernspin  $\vec{I}$ , der wie jeder Drehimpuls auf atomarer oder subatomarer Ebene gequantelt ist, also nur diskrete Werte annehmen kann.

Durch die Rotation des positiv geladenen Nukleus ist mit diesem Kernspin stets auch ein magnetisches Moment  $\vec{\mu}$  verknüpft, wobei diese beiden Größen über die für jede Kernart spezifische gyromagnetische Konstante  $\gamma$  verbunden sind:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \quad (4.1)$$

In einem statischen Magnetfeld erfahren diese zuvor regellos orientierten Spins über die Wechselwirkung ihres magnetischen Moments eine Ausrichtung.

Die quantenmechanische Betrachtungsweise liefert für die Betragsquantisierung des Kernspin  $|\vec{I}|$  die Werte

$$|\vec{I}| = \hbar \sqrt{I(I+1)} \quad (4.2)$$

mit  $\hbar = 1,0545 \cdot 10^{-34}$  als Planckschem Wirkungsquantum ( $\hbar = h/2\pi$ ) und  $I$  als Kernspinquantenzahl, die je nach Kern halb- oder ganzzahlig sein kann.

Für die Richtungsquantisierung ergeben sich desweiteren nach Ausrichtung im magnetischen Feld für die z-Komponente des Drehimpulsvektors die Werte

$$|\vec{I}_z| = \hbar |m_I| \quad (4.3)$$

Hier kann die magnetische Quantenzahl  $m_I$  die Werte  $-I, -I+1, \dots, I-1, I$  annehmen. Daraus ergeben sich für den Drehimpulsvektor  $2I+1$  Einstellmöglichkeiten.

Für Protonen  $^1H$  mit einer Kernspinquantenzahl von  $I = 1/2$  resultieren daraus zwei erlaubte Grundzustände mit paralleler oder antiparalleler Ausrichtung zu einem äußeren Magnetfeld  $B_0$ .

Nach klassischer Betrachtungsweise präzedieren diese Spins nun um die Richtung des  $B_0$ -Feldes mit einer von der Magnetfeldstärke abhängigen Frequenz  $\omega_0$ , der sogenannten Larmorfrequenz.

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (4.4)$$

Die in einem statischen, homogenen Magnetfeld der Stärke  $\vec{B}_0$  eintretende Richtungsquantelung führt aber gleichzeitig zu einer Aufspaltung des Zustands in zwei Energieniveaus  $E_{+1/2}$  und  $E_{-1/2}$  deren Differenz  $\Delta E$  proportional zum äußeren Magnetfeld ist.

$$\Delta E = E_{+1/2} - E_{-1/2} = -\vec{\mu}_z \vec{B}_0 \quad (4.5)$$

Das Verhältnis der Populationen  $N$  beider Energiezustände läßt sich anhand der Boltzmann-Statistik mit der Boltzmannkonstanten  $k$  in Abhängigkeit von der Temperatur  $T$  nach

$$\frac{N_{E_{+1/2}}}{N_{E_{-1/2}}} = e^{-\Delta E/kT} \quad (4.6)$$

beschreiben.

Bei der in diesen Versuchen eingesetzten Magnetfeldstärke von 2.35 Tesla und der Körpertemperatur von  $T = 310$  K ist dieser Besetzungsunterschied in Anbetracht der kleinen Energiedifferenzen mit  $N_{E_{+1/2}}/N_{E_{-1/2}} = 0,9999845$  sehr gering.

Entspricht die Energie  $E_{HF} = \hbar\omega_{HF}$  eines von außen eingestrahnten, zeitabhängigen elektromagnetischen Hochfrequenzfelds HF der Energiedifferenz der beiden Niveaus  $\Delta E = \hbar\omega_0 = \gamma\hbar B_0$ , was die Resonanzbedingung

$$\omega_{HF} = \omega_0 = \gamma B_0 \quad (4.7)$$

erfüllt, so werden über das zeitabhängige magnetische, zirkular polarisierte Feld  $B_1(t)$  Übergänge zwischen den Populationen induziert. Das thermische Gleichgewicht wird gestört.

Die makroskopisch detektierbare Magnetisierung  $\vec{M}$  ergibt sich aus der Vektorsumme aller  $N$  magnetischen Kernmomente  $\mu_i$  des Volumens  $V$ , die – dephasiert – auf dem Mantel eines Doppelpräzessionskegels verteilt, präzedieren,

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum_i^N \mu_i \quad (4.8)$$

wobei  $i$  die Energiezustände zählt.

Durch die geringfügig höhere Spinbesetzung des geringeren Energieniveaus zeigt die Gleichgewichtsmagnetisierung  $\vec{M}_0$  in Richtung des Magnetfeldes  $\vec{B}_0$ .

Eine Resonanzfrequenz, die das Populationsverhältnis zu invertieren vermag, führt demnach zu einer Nettomagnetisierung  $\vec{M}$ , die der Gleichgewichtsmagnetisierung entgegengerichtet ist bzw. um  $\theta = 180^\circ$  gedreht wurde:

$$\vec{M} = -\vec{M}_0 \quad (4.9)$$

Eine Resonanzfrequenz, die zur Gleichbesetzung beider Niveaus führt, induziert gleichzeitig über eine Phasenkohärenz der Einzelspins eine um  $\theta = 90^\circ$  in die xy-Ebene gedrehte Nettomagnetisierung.

Die Größe des sogenannten Flip-Winkels  $\theta$  hängt ab von der Dauer  $\tau$  und Amplitude des eingestrahlten zirkular polarisierten Feldes  $B_1(t)$ :

$$\theta = \gamma B_1(t) \tau \quad (4.10)$$

Man spricht demnach auch von einem  $180^\circ$  bzw.  $90^\circ$  Puls.

Durch die Anwesenheit lokaler, zeitlich fluktuierender magnetischer Zusatzfelder  $\vec{B}_{lok}(t)$  am Ort des Kerns, die durch molekulare Translations-, Rotations- und Vibrationsbewegungen begründet sind, gelangt ein angeregtes Spinsystem wieder in den Gleichgewichtszustand zurück, ein Prozeß, der als Relaxation bezeichnet wird. Stellt man sich die Nettomagnetisierung in jeweils eine Längsmagnetisierung  $M_z$  und eine Quermagnetisierung  $M_{xy}$  zerlegt vor, so lassen sich zwei mit unterschiedlicher Kinetik verlaufende Relaxationsprozesse bestimmen. Dabei wird zum einen die Relaxation der Längsmagnetisierung  $M_z$  auf den Wert  $M_z = M_0$  über die Längs- bzw. Spin-Gitter-Relaxationszeit T1 beschrieben, zum anderen die Relaxation der Quermagnetisierung  $M_{xy}$  auf  $M_{xy} = 0$  durch die Quer- oder Spin-Spin-Relaxationszeit T2 charakterisiert.

Die Spin-Spin-Relaxation ist gekennzeichnet durch den Verlust der Phasenkohärenz bedingt durch Magnetfeldinhomogenitäten oder die zum  $\vec{B}_0$ -Feld parallelen Komponenten von  $\vec{B}_{lok}(t)$  am Ort des betreffenden Kerns. Das veränderte effektive Magnetfeld  $\vec{B}_{eff}$  resultiert nach Gleichung 4.4 in einer veränderten Larmorfrequenz mit der Konsequenz, daß die Spins des Spin-Pakets auseinander laufen.

Die Spin-Gitter-Relaxation ist gekennzeichnet durch den Energieübergang an das „Gitter“, also der Gesamtheit der den detektierten Kern umgebenden Atome oder Moleküle. Das, durch eine entlang der y-Achse orientierte Spule, detektierte Signal  $V$  wird hervorgerufen durch den auf diese Achse projizierten Anteil der in der xy-Ebene rotierenden Quermagnetisierung. Dieses läßt sich demnach durch eine Sinusfunktion beschreiben, exponentiell gedämpft durch Relaxationsprozesse

$$V \simeq M_0 \sin(\omega t) \exp(-t/T2) \quad (4.11)$$

Dieses Signal wird auch als FID, *'free induction decay'* bezeichnet.

Eine Impulssequenz besteht nun darin, daß durch unterschiedliche und z. T. mehrfach wiederholte HF-Impulse das Spinsystem vor der Akquisition des Signals angeregt und präpariert wird. Werden dem magnetischen Grundfeld  $\vec{B}_0$  während der Akquisitionsphase sogenannte Gradientenfelder, d. h. Zusatzfelder mit definierter Ortsabhängigkeit mit  $B^x = G^x x$  und  $G^x$  als Steilheitsfaktor des Feldes (siehe Abbildung 4.2) überlagert, so resultieren daraus nach Gleichung 4.12 unterschiedliche Larmorfrequenzen, die nun eine Funktion des Ortes darstellen.

$$\omega_x = \gamma \left( B_0 + \frac{\partial B}{\partial x} dx \right) \quad (4.12)$$

Mit Hilfe der Fourier-Transformation lassen sich aus dem mit der Spule detektierten Frequenzspektrum die orts aufgelösten Signalamplituden zurückberechnen. Ergänzt wird dieses Prinzip der Frequenzkodierung zur x-direktionalen Ortsauflösung durch die Phasenkodierung, mit deren Hilfe die Ortsauflösung in der zweiten Dimension erfolgt. Hierbei wird vor der Akquisition des FID für die Zeit  $t_x$  ein Phasenkodiergradient geschaltet

(Gleichung 4.13). Nach dem Abschalten des Gradienten präzedieren alle Magnetisierungs-komponenten wieder in der ursprünglichen, ortsunabhängigen Larmorfrequenz  $\omega_0$ , jedoch mit einem ortsabhängigen Phasenwinkel  $\phi(x)$ . Wird die Sequenz mit äquidistant erhöhten Phasenkodiergradienten wiederholt, läßt sich hieraus mit Hilfe der Fouriertransformation die Ortsinformation berechnen (Edelman *et al.*, 1996; Reiser & Semmler, 1992; Stark & Bradley, 1986).

$$\phi(x) = (\gamma G^x t_x) x = kx \quad (4.13)$$

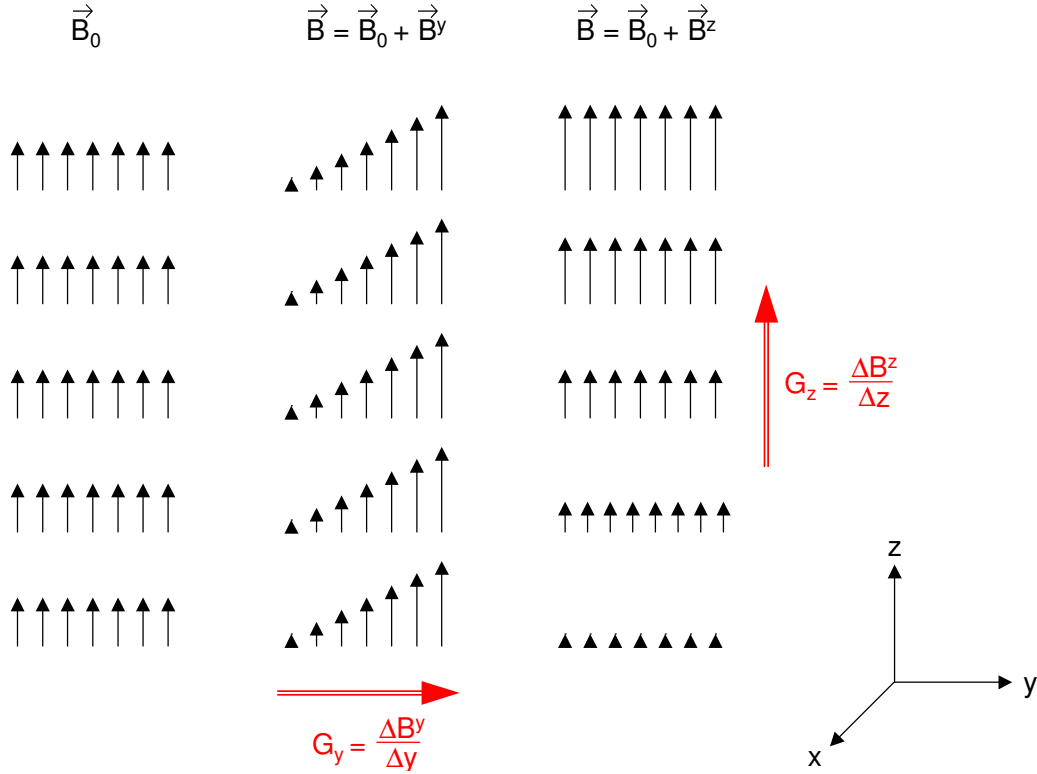


Abbildung 4.2: Für die Bildrekonstruktion werden dem homogenen Grundfeld  $\vec{B}_0$  magnetische Zusatzfelder, die Gradientenfelder  $\vec{B}^x$ ,  $\vec{B}^y$  und  $\vec{B}^z$  überlagert.

### 4.2.1 Spulenauswahl

Unter den verfügbaren Spulen wurde ein geeigneter Resonator hinsichtlich Spulengüte und -geometrie zur Optimierung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses ausgewählt. Die Spulengüte  $Q$  ist definiert als das Verhältnis der Halbwertsbreite  $\nu_{\frac{1}{2}}$  zur Resonanzfrequenz  $\nu_0$  der Spule (Gleichung 4.14), wie in Abbildung 4.3 skizziert.

$$Q = \frac{\nu_{\frac{1}{2}}}{\nu_o} \quad (4.14)$$

Nach dem Faraday'schen Induktionsgesetz gilt für die elektromotorische Kraft  $\mathcal{E}$

$$\mathcal{E} = \frac{1}{4} \pi d^2 n \omega_0 M_x \sin(\omega t) \quad (4.15)$$

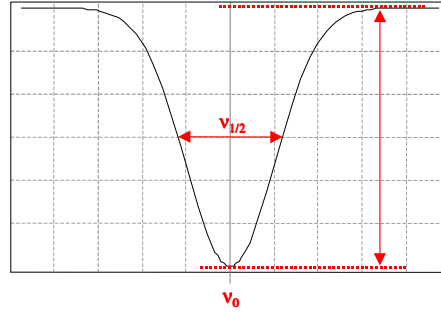


Abbildung 4.3: Halbwertsbreite  $\nu_{1/2}$  und Resonanzfrequenz  $\nu_0$  zur Bestimmung der Spulengüte  $Q$

mit  $n$  als Anzahl der Spulenwicklung,  $\frac{1}{4}\pi d^2$  als Spulenfläche und  $M_x \sin(\omega t)$  als Quermagnetisierung. Daraus ergibt sich die um den 'filling factor'  $\eta$  (Abragam, 1961) verminderte, meßbare Spannung  $P$  zu

$$P = \eta q \mathcal{E} \quad (4.16)$$

mit

$$\eta \cong \frac{\text{Probenvolumen}}{\text{Spulenvolumen}} \quad (4.17)$$

Daraus wird deutlich, daß die Spulengeometrie einen erheblichen Einfluß auf die Spulengüte  $Q$  aufweist.

Darüber hinaus ist aber auch die Wahl des Spulentyps von Bedeutung. Eine Ganzkörperspule fungiert als Transmitter und Receiver, womit eine weitgehend homogene Ausleuchtung des FOV erreicht wird. Beim Einsatz einer Oberflächenspule dient diese als Receiver, muß aber von dem weiterhin als Transmitter genutzten Ganzkörperresonator entkoppelt werden, weil dessen weitaus stärkere Sendeleistung die Empfangsspule zerstören würde. Da diese Entkopplung schaltungstechnisch aufwendig ist und am Tomographen nicht zur Verfügung stand, wurde die Oberflächenspule als Sende- und Empfangsspule eingesetzt. Anstelle einer homogenen Ausleuchtung kommt es somit nur zu einer exponentiell von der Spulenebene aus abfallenden Ausleuchtung (s. Gleichung 3.3)<sup>2</sup>. Dies impliziert u. a. , daß ein  $\pi/2$ -Impuls (s. S. 100) nur in einer definierten, zur Spulenebene planparallelen Ebene des Untersuchungsobjektes definiert ist. Dieser Zusammenhang wurde im Umkehrschluß dahingehend genutzt, die Pulsstärken derart zu wählen, daß das gewünschte Intensitätsmaximum in den interessierenden Gewebereich transloziert wurde (Abbildung 4.4).

Aus dem exponentiellen Intensitätsabfall resultierte desweiteren ein prinzipielles Problem in der histogrammbasierten Clusteranalyse. Die T2-, T1- und diffusionsgewichteten Aufnahmen zeigten einen inhomogenen Intensitätsverlauf, so daß ein Gewebecluster in der Richtung dieser Bildqualität weniger scharf erscheint. Dieses trat jedoch nicht bei den berechneten apparenten Diffusionskoeffizienten-Bildern auf. Diese werden aus den Signalunterschieden, also der Steigung der durch die diffusionsgewichteten Bilder vorgegebenen Intensitäten berechnet. Sie hängen somit nur von der physikalischen Gewebeeigenschaft,

<sup>2</sup>Das bedingt beispielsweise, daß vertikal positionierte Gewebeareale mit identischen T2-Zeiten unterschiedliche T2-Intensitäten aufweisen.

dem apparenten Diffusionskoeffizienten ab. Es kommt leglich zu einem theoretischen Anstieg der Fehlerbreite der Diffusionskoeffizienten in spulenfernen Arealen.

Bei hinreichender Clustergröße trat dieses Problem in nicht störendem Umfang auf. Bei vergrößertem FOV oder anderer Oberflächenspulen-Charakteristik ließe sich eine Homogenisierung durch eine zeilenweise Multiplikation der T2-, T1- und diffusionsgewichteten Bilder in y-Richtung gemäß Gleichung 3.3 erzielen.

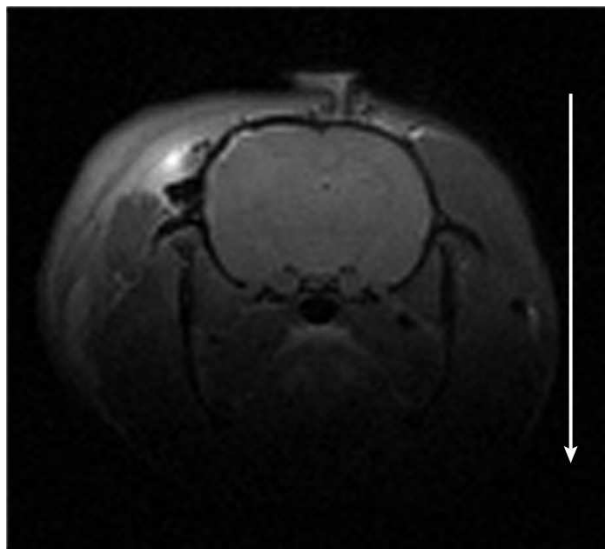


Abbildung 4.4: Abfall der Signalintensität in zur Spulenebene vertikaler Richtung

Als ein weiterer Aspekt der Spulenauswahl gewinnt außerdem die Resonanzfrequenzverteilung Bedeutung, da mittels Phosphorspektroskopie anhand der Energiemetabolite ATP, ADP,  $P_i$  und Phosphokreatin die Energiebilanz des Gewebes untersucht werden kann. Hierzu wäre die in der Lubeluzol-Studie eingesetzte Doppelresonanz-Spule ideal, da sich dadurch das aufwendige Prozedere des Spulenwechsels mit genauer Repositionierung des Tieres und erneutem Abstimmen der Resonanzfrequenz (Shimming) vermeiden liesse. Da derartige Untersuchungen in weiteren Studien geplant sind, ist ggf. der Rückgriff auf die Bruker-Spule, bzw. die Neuentwicklung einer Doppelresonanzspule mit hinreichendem SNR für beide Frequenzen zu erwägen.

#### 4.2.2 T2-gewichtete Bildgebung

Bei fehlender Kontrolle des ICP und MABP und der daraus resultierenden Gefahr einer zerebralen Minderperfusion wurde versucht, die für die Bildgebung erforderlichen Narkosezeiten hinreichend gering zu halten, indem möglichst Schnellbildsequenzen zum Einsatz kamen. Da extreme Schnellbildsequenzen, wie die Echoplanartechnik (EPI) mit ihren hohen apparativen Anforderungen wie großen Gradientenamplituden bei kurzer Schaltzeit nicht zur Verfügung standen, wurde mit der RARE-Technik<sup>3</sup> eine sogenannte Hybridtechnik eingesetzt. Während die zeitkritische Phasenkodierung bei der EPI-Technik zur Abtastung der Rohdatenmatrix in einem einzigen Sequenzdurchgang erfolgt, werden in der RARE-Technik pro Sequenzdurchgang die  $N_e$  Echos dieser Multiechosequenz jeweils

<sup>3</sup>rapid acquisition with relaxation enhancement

unterschiedlich phasenkodiert, so daß in in einem Zug mehrere Datenzeilen akquiriert werden können. (Abbildung 4.5 und 4.6).

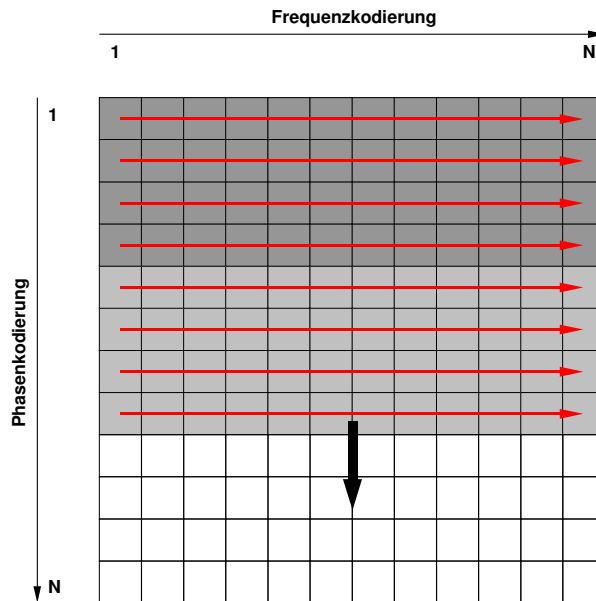


Abbildung 4.5: Abtastung der Rohdatenmatrix in der Multiechosequenz-Technik RARE, aus Reiser & Semmler, 1992.

Damit reduziert sich gegenüber einer 2D-Fourier-Technik der Zeitaufwand auf  $1/N_e$ . Mit steigendem  $N_e$  werden durch die zunehmend zerfallende Phasenkohärenz die kürzeren T2-Zeiten herausgefiltert, so daß, ebenso wie durch eine längere Echozeiten, stark T2-gewichtete Bilder resultieren.

Die ebenfalls schnellen Bildgebungssequenzen, wie FLASH oder FISP mit Kleinwinkel Anregung und Gradientenecho stellen einen hohen Anspruch an die magnetische Feld- und Suszeptibilitäts-Homogenität und kamen aufgrund der durch Blutungsareale induzierten magnetische Suszeptibilitäts-Inhomogenitäten nicht zum Einsatz.

### 4.2.3 T1- und post-Kontrast-T1-Wichtung

Für die T1- und post-Kontrast-T1-gewichtete Bildgebung wurde eine MSSE-Technik eingesetzt. Aus den nach Gleichung 4.18 beschreibbaren Signalintensitäten  $S$  dieser Bilder

$$S = \underbrace{\rho_0}_{\text{Protonendichte}} \underbrace{(1 - e^{-TR/T1})}_{T1-Term} \underbrace{(e^{-TE/T2})}_{T2-Term} \quad (4.18)$$

läßt sich der Bildkontrast  $K_{AB}$  zweier Bilder  $A, B$  nach Gleichung 4.19

$$K_{AB} = |S_A - S_B| \quad (4.19)$$

bestimmen. Betrachtet man den durch die T1-Wichtung erzielbaren Bildkontrast in Abhängigkeit von TR mit  $T1 = 1146$  ms für die graue Substanz und  $T1 = 1078$  ms (T1-Werte bei 100 MHz aus Bottomley *et al.*, 1984) für die weiße Substanz (Abbildung 4.7), so

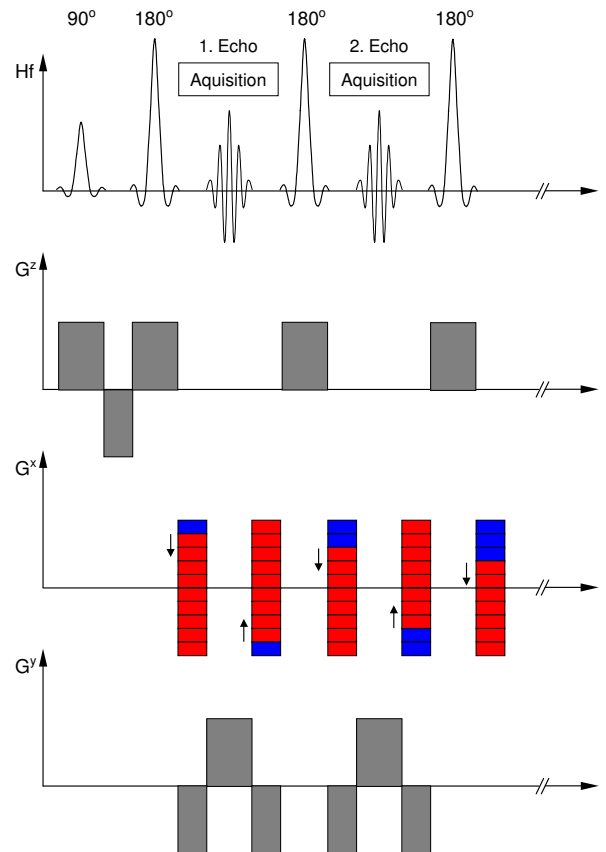


Abbildung 4.6: Impuls- und Gradientenschema der RARE-Sequenz, mit  $G^z$  Schichtauswahl,  $G^x$  Phasenkodierung,  $G^y$  Auslesegradient, aus Reiser & Semmler, 1992.

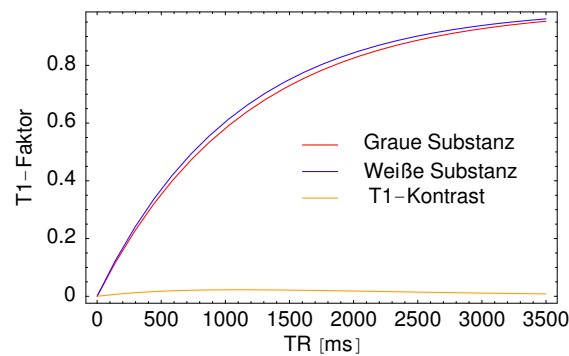


Abbildung 4.7: T1-Kontrast des gesunden Gehirngewebes der Ratte bei 2.35 T in Abhängigkeit der Repetitionszeit  $TR$ .

zeigt die Ableitung des T1-Kontrastes (Abbildung 4.8) das Maximum des T1-Kontrastes bei  $TR=1111$  ms an, also in der Größenordnung der T1-Zeiten beider Gewebetypen. Hinsichtlich der Differenzierung zwischen grauer und weißer Substanz waren die hier gewählten Parameter von  $TR = 500$  ms demnach in Bezug auf die T1-Bildgebung zwar nicht optimal gewählt, aufgrund der Ähnlichkeit der T1-Zeiten, d. h. des insgesamt sehr flachen Kurvenverlaufes, wäre der T1-Kontrast bei entsprechender Parameterwahl aber



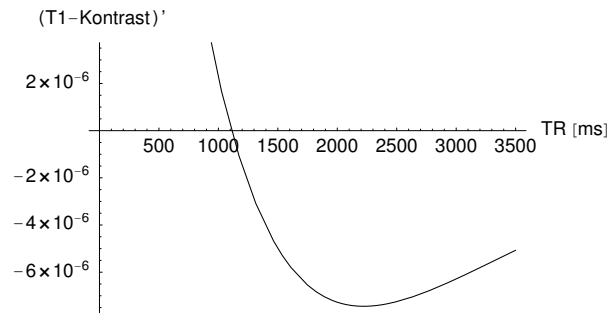


Abbildung 4.8: Maximaler T1-Kontrast zwischen der grauen und weißen Substanz im gesunden Hirngewebe der Ratte, in Abhängigkeit von TR bei 2.35 T. Dargestellt als Ableitung der T1-Kontrast-Kurve aus Abbildung 4.7.

nicht wesentlich zu steigern gewesen. Abbildung 4.9 zeigt im Gegensatz dazu beim Menschen die deutliche Kontrastierung beider Gewebetypen bei entsprechender TR-Wahl. Daher wurde die Repetitionszeit auf  $TR = 500$  ms hinsichtlich der Kontrastmittel-Bildgebung optimiert, um eine geringe Kontrastmittelextravasation möglichst sensitiv erfassen zu können. Denn entsprechend des T1-Terms aus Gleichung 4.18 steigt die Signalintensität mit abnehmendem T1-Wert. Eine darüber hinausgehende Verkürzung von TR würde allerdings durch die in dieser Zeit nur unvollständige longitudinale Relaxation auf

$$M_z(TR) = M_0[1 - e^{(-TR/T1)}] \quad (4.20)$$

bedingen und in der Folgeanregung eine verringerte Signalintensität erzeugen.

Ein Schwerpunkt der mit einer Kontrastmittel-assoziierten T1-gewichteten Bildgebung liegt auf der Detektion einer Blut-Hirn-Schrankenstörung. In den vorliegenden Untersuchungen wurde unmittelbar vor der T1-gewichteten Sequenz Gadolinium-DTPA injiziert. Das Gadolinium liegt hierin nach Komplexbildung mit dem Chelatbildner DTPA und Versalzung mit Methylglucamin als ein wasserlöslicher Metall-Salz-Komplex vor (Abbildung 4.10).

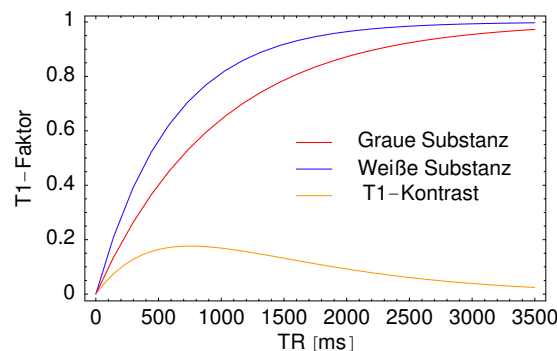


Abbildung 4.9: T1-Kontrast zwischen der grauen und weißen Substanz im gesunden Gehirngewebe des Menschen in Abhängigkeit von TR.

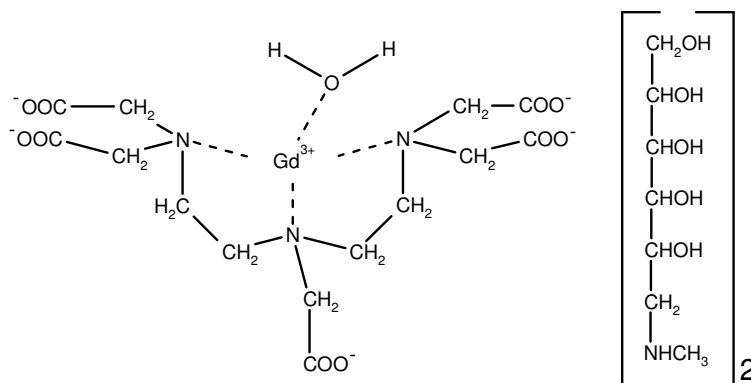


Abbildung 4.10: Molekülstruktur des Gadolinium-Dimegluminats (Magnevist<sup>®</sup>)

Das Molekulargewicht des in der wässrigen Phase dissoziierten Salzes beträgt, ohne das Anion, 550 Dalton. Hinsichtlich der Pharmakokinetik besitzt die Substanz eine Plasmahalbwertszeit von 90 Minuten und wird zu ca. 90 % pro 24 Stunden renal eliminiert, die hepatische Exkretion liegt bei < 0.1% der Dosis in 5 Tagen. Eine meßbare Metabolisierung, Dissoziation oder Retention der Substanz liegt nicht vor. Mit Ausnahme von Pinealis, Hypophyse, Infundibulum und *Plexus chorioideus* überwindet die Substanz die intakte Blut-Hirn-Schranke nicht (Kilgore *et al.*, 1987). Das Seltene Erden Element Gadolinium zeigt unter den Nebengruppenelementen mit seiner speziellen Konfiguration von  $4f^7$ , also sieben ungepaarten Elektronen, den stärksten paramagnetischen Effekt auf die longitudinale Relaxationszeit T1 der Wasserstoffkerne, die vorübergehend an der freien Koordinationsstelle ankoppeln. Durch den schnellen Austausch gebundener und freier Protonen<sup>4</sup> ist der Wirkungsgrad des Gadoliniums als Kontrastmittel entsprechend hoch. Ein weiterer Schwerpunkt der nativen, T1-gewichteten Bildgebung liegt in der besonderen Darstellbarkeit von Blutungsarealen. Während in der computertomographischen Bildgebung die Darstellbarkeit einer Blutung lediglich auf der Proteinkonzentration basiert (Enzmann *et al.*, 1981), beeinflussen in der kernspintomographischen Bildgebung die Suszeptibilität, die Relaxivität und die räumliche Kompartimentierung, bedingt durch die komplexe Abbaukinetik des Hämoglobins, die T1-, aber auch T2-Werte in spezifischer Weise (Tabelle 4.1).

Ursache der Suszeptibilitätsänderungen im Rahmen der Hämatomorganisation ist das im Häm zentral gebundene Eisenatom. Ausgehend von der elektronischen Grundkonfiguration des Eisens mit  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^6 4s^2$  bildet der Protoporphyrinring IX, die Imidazolgruppe des Histidin-Restes F8 und ein Sauerstoffmolekül ein oktaedrisches Ligandenfeld, das die energetische Entartung des  $Fe^{2+}$  induziert. Da die Ligandenfeldaufspaltung größer als die Spinpaarungsenergie ist, entsteht ein diamagnetischer low-spin Zustand durch die sechs gepaarten Elektronen (Abbildung 4.11).

Die in einem Hämatom aufgrund der verminderten Perfusion und des erhöhten  $O_2$ -Bedarfs bestehenden, zunehmend anaeroben Verhältnisse führen zu einer sukzessiven Deoxygenierung des Hämoglobins mit der Freigabe der 6. Ligandenposition. Dieses resultiert in einer energetischen Umverteilung des Ligandenfeldes hin zu einem high-spin Zustand mit zwei

<sup>4</sup>Der ebenfalls beobachtbare Effekt einer Zunahme der T2-Relaxationsrate durch Gadolinium überwiegt erst bei entsprechend hohen Konzentrationen an Gadolinium und spielt klinisch somit keine Rolle.

Stadium	Zeit	Hämoglobin	Kompartiment	R	$\chi$	Magnetismus	T1	T2
Hyperakut	< 24 h	Oxyhämoglobin	intrazellulär	–	–	diamagnetisch	↓	↑
Akut	1 - 3 d	Deoxyhämoglobin	intrazellulär	–	+	paramagnetisch	↓	↓
Subakut	früh > 3 d	Methämoglobin	intrazellulär	+	+	paramagnetisch	↑	↓
	spät > 7 d	Methämoglobin	extrazellulär	+	–	paramagnetisch	↑	↑
Chronisch	> 14 d	Hämosiderin	intrazellulär	–	+	superparamagnetisch	=	↓

R Relaxivität  
 $\chi$  Suszeptibilität  
 = Isointens  
 ↑ Relaxationszeitverlängerung  
 ↓ Relaxationszeitverkürzung

Tabelle 4.1: Signalentwicklung von Blutungsarealen, modifiziert aus [Edelman \*et al.\*, 1996](#).

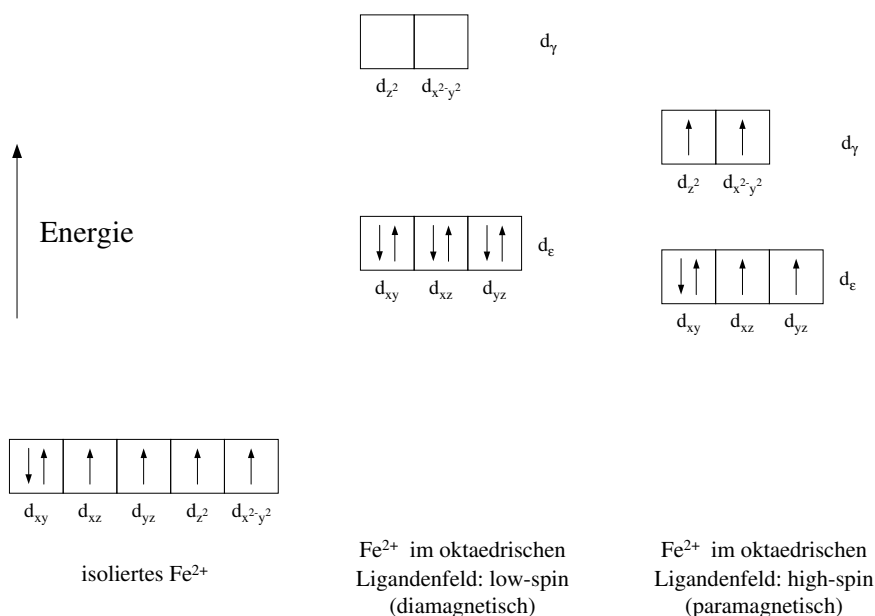


Abbildung 4.11: Energetische Entartung des  $\text{Fe}^{2+}$  durch ein oktaedrisches Ligandenfeld. Ist die Ligandenfeldaufspaltung größer als die Spinpaarungsenergie, entsteht ein low-spin Zustand, der diamagnetisch ist, bei geringerer Ligandenfeldaufspaltung resultiert ein high-spin Zustand mit paramagnetischen Eigenschaften.

ungepaarten Elektronen, der nun paramagnetische Eigenschaften aufweist. Die in einer hydrophoben Spalte des Hämoglobinmoleküls positionierte Hämgruppe erfährt jedoch keinen Kontakt zu freien Wassermolekülen, so daß Deoxyhämoglobin keine nennenswerten Relaxivität zeigt. Die enge Packung des Hämoglobins in intakten Erythrozyten erklärt jedoch eine nachweisbare Suszeptibilität mit Verkürzung der T2-Zeit. Die Lyse der Erythrozyten mit gleichzeitiger Oxidation des Deoxyhämoglobin zu Methämoglobin resultiert in einem weiterhin paramagnetischen Zustand der Hämgruppe, die nun den Zugang zu Wassermolekülen ermöglicht und dementsprechend die T1-Relaxation beschleunigt. Durch die Zelllyse wird die suszeptibilitätsinduzierte T2-Relaxation vermindert. Die Zeitangaben der Tabelle 4.1 dürfen nur als ungefähre Angaben verstanden werden, da beispielsweise

durch die unterschiedliche Perfusion des betroffenen Gewebes intraparenchymatöse Blutungen, Subduralblutungen oder Subarachnoidalblutungen ein jeweils unterschiedliches Verhalten zeigen.

Eine auf diesen Grundlagen beruhende Interpretation der vorliegenden Traumadaten erwies sich als schwierig. So zeigte sich bereits auf den unmittelbar posttraumatischen T1-gewichteten Bildern in allen Tieren ein primär hyperintenses, sichelförmiges, subdural gelegenes Areal, was, unter Annahme einer hämatogenen Herkunft, das Vorliegen von Methämoglobin vermuten läßt. Die frühzeitige Entstehung des Methämoglobins bei gleichzeitiger Zellyse ließe sich u. U. als Folge der direkten traumatischen Einwirkung verstehen. Unmittelbar posttraumatisch zeigte sich im Bereich des Trepanationsdefekts bereits makroskopisch eine subdurale/subarachnoidale Blutung. Der posttraumatisch epidural aufgetragene Zahnzement war nicht für die Methämoglobinentstehung ursächlich, da diese Veränderung auch bei Traumatieren ohne entsprechende Zementabdeckung gesehen wurde.

Die Ursache der im nativen T1-gewichteten Bild 6 Stunden nach Trauma im Cortexbereich gesehenen Hyperintensität muß als Kontrastmittelrest der  $4\frac{1}{2}$  Stunden zuvor durchgeführten Aufnahme 90 Minuten nach Trauma gewertet werden. Da bei einer Halbwertszeit von 90 Minuten nach dieser Zeit bereits 87.5 % des intravasal applizierten Kontrastmittels renal eliminiert wurden, weist der verbleibende Kontrastmittelrest auf einen erheblichen Blut-Hirn-Schrankendefekt mit Störung der Mikrozirkulation und einer verzögerten Kontrastmittelimination aus dem Kontusionsbereich hin. Inwieweit die auch in den Folgeaufnahmen (24 und 48 Stunden nach Trauma) gesehene Hyperintensität der Nativbilder ursächlich auf der Kontrastmittelextravasation oder der zunehmenden Bildung von Methämoglobin beruht, läßt sich anhand der Daten nicht sicher differenzieren. Hierzu steht eine weitere Untersuchungsreihe, in welcher für die Untersuchung der einzelnen Zeitpunkte jeweils andere Tiere herangezogen werden, so daß der Effekt einer vorausgegangenen Kontrastmittelgabe eliminiert werden kann, noch aus.

Die Dynamik der Kontrastmittelextravasation in den vorliegenden Experimenten (s. Abbildung 3.40 und 3.50) zeigte in der hier gewählten zeitlichen Auflösung von 90 Minuten - 6 Stunden - 24 Stunden - 48 Stunden - 7 Tage eine maximale Ausdehnung im Zeitraum von 24 bis 48 Stunden. Demgegenüber werden in der Literatur vereinzelt eine biphasische Blut-Hirn-Schrankenöffnung beschrieben. So weist Baskaya *et al.*, 1997 im Modell des lateralen CCII mit Hilfe der Evans-Blue (EB) Applikation einen maximalen Farbstoffaustritt 4 Stunden nach Trauma auf, mit einem zweiten, geringerem Nebenmaximum im ipsilateralen Cortex- und Hippocampusareal nach drei Tagen. Diskutiert werden hier unterschiedliche pathophysiologische Ursachen, so die verzögerte Reperfusion eines traumaassoziierten, ischämischen Gewebeareals. Desweiteren wird neben der unmittelbaren traumatischen Gefäßzerreißung die verzögerte Freisetzung von Mediatoren wie Leukotrienen und Prostaglandinen als Arachidonsäurederivate, sowie Polyaminen, Histamin und freien Radikalen angeschuldigt (Baskaya *et al.*, 1997). Diese, sowie die Leukozytenadhäsion könnten mit einer entsprechenden zweiten Blut-Hirn-Schrankenöffnung korrelieren. Als weiterer Mechanismus könnte auch die Reabsorption von Ödemflüssigkeit verantwortlich für die wiederholte Schrankenstörung gemacht werden. Auch die Untersuchungen von Baldwin *et al.*, 1996, der nach kortikaler Kontusion der Ratte die Meerrettich-Peroxidase-Applikation nutzte, um eine Blut-Hirn-Schrankenstörung nachzuweisen, fand einen Hinweis auf eine biphasische Öffnung. Shapira *et al.*, 1993 hingegen fanden in einem

geschlossenen Traumamodell der Ratte keinen Hinweis auf eine zweizeitige Blut-Hirn-Schrankenstörung nach EB-Injektion, konnten aber zeigen, daß der Schrankendefekt nach vier Stunden maximal ist und über vier Tage anhält. Im Gegensatz zu den eigenen Untersuchungen stützten sich die hier zitierten Studien auf Meerrettich-Peroxidase oder auf Evans-Blue als Penetrationsmarker. Da Evans-Blue als Albumin gebundenes Farbstoffmolekül mit einem effektiven Molekulargewicht von  $M_r = 67000$  ebenso wie die Meerrettich-Peroxidase ( $M_r = 40000$ ) deutlich über dem des Gd-DTPA liegt, ist ein unmittelbarer Vergleich nur bedingt möglich. Erwähnenswert ist auch die Untersuchung von [Bulte et al., 1993](#), die mit kernspintomographischen Methoden anhand des Kryoläsionsmodell, das durch einen ausgeprägten vasogenen Ödemanteil charakterisiert ist ([Klatzo, 1967](#)), eine im Ausmaß vergleichbare Anreicherung von Evans-Blue und Dextran-gebundenem Magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) 15 Minuten nach Induktion des Kältetraumas zeigt. Das superparamagnetische Magnetit besitzt durch die Kopplung an Dextran ein effektives Molekulargewicht von 10.9 kD. Die Ursachen der Blut-Hirn-Schrankenstörung mit einer direkten endothelialen Zerreißung, der Auflockerung von 'tight-junctions' sowie dem erhöhten vesikulären Transport ([Klatzo, 1985](#)) lassen eine im Vergleich zum EB und zur Meerrettich-Peroxidase erleichterte Penetration der Blut-Hirn-Schranke für Gd-DTPA erwarten. Es muß auch offen bleiben, ob ein biphascher Verlauf nur Ausdruck einer Perfusionsminderung aufgrund lokaler ICP-Gradienten, oder einer erneuten, echten Schrankenöffnung ist. Zusätzlich erschwert werden die Interpretationen durch die Arbeiten von [Barzo et al., 1997](#). In diesen kernspintomographischen Studien wird nach einem Schlag-Akzelerations-Modell als geschlossenes SHT an der Ratte eine nur passagere Öffnung der Blut-Hirn-Schranke detektiert, die unmittelbar nach Trauma-induktion einsetzt und nur 30 Minuten anhält.

Somit läßt sich vermuten, daß das Ausmaß und die Dauer der Schrankenstörung erheblich von der Traumaapplikation abhängen. In einer theoretischen Arbeit von [Tofts, 1996](#) werden die Größen des 'leakage space' und der 'permeability surface area' herangezogen, um anhand von Modellrechnungen, gestützt durch Untersuchungsreihen von [Kermode et al., 1990](#), die optimalen Parameter für eine magnetresonanztomographische post-Kontrast-T1-gewichtete Bildgebung zu ermitteln. Als 'leakage space' wird der vom Kontrastmittel erreichbare Interzellularraum definiert, die 'permeability surface area' beschreibt die Oberfläche des Gefäßbettes, in dem der Blut-Hirn-Schrankendefekt besteht. Die Parameter wurden an die Nachweisgrenze des Gd-DTPA adaptiert, um auch bei minimaler Schrankenstörung (d. h. großer 'leakage space' und geringer 'permeability surface area') einen Blut-Hirn-Schrankendefekt zu detektieren. Er zeigte, daß für sogenannte 'low permeability lesions' Untersuchungszeitpunkte bis über eine Stunde nach Kontrastmittelapplikation notwendig werden können, um den Kontrastmittel-Austritt zu erfassen, andererseits 'small leakage space' Läsionen nur innerhalb der ersten 10 Minuten detektierbar sein können. Auf Grundlage dieser Daten wurden sowohl in der Lubeluzol-Studie, als auch in der 7-Tage-Verlaufsuntersuchung Zeit-Korrelationsmessungen durchgeführt, in der nach Gd-DTPA Gabe zu jedem Zeitpunkt 90 Minuten - 6 Stunden - 24 Stunden(- 48 Stunden - 7 Tage) vier sukzessive post-Kontrast-T1-gewichtete Messungen durchgeführt wurden. Hier fand sich über das Meßintervall von 40 Minuten jeweils ein langsam konvergierender Intensitäts-Verlauf der Areale mit Permeabilitätsstörung, was im Prinzip einer Kinetik der Kontrastmittelaufnahme mit Sättigungscharakteristik entspricht (Abbildungen [3.41](#) und [3.50](#)). Die über 40 Minuten verzögerte Anflutung des Markers entspräche dann, auf Grundlage der Arbeit von Tofts interpretiert, einer mittleren Transfer-Konstante  $k$  in der

Größenordnung von  $k = 0.003 - 0.01 \text{ min}^{-1}$ . Diese Untersuchungen zeigen somit, daß der vasogene Ödemanteil über den gesamten Untersuchungszeitraum von 7 Tagen eine wesentliche Rolle spielt. Eine zeitlich hochaufgelöste post-Kontrast-T1-gewichtete MRT-Studie mit der unmittelbar anschließenden Detektion der EB-Extravasation wäre für die Korrelation beider Extravasationsmarker, sowie für die quantitative Bestimmung des vasogenen Ödemanteils sinnvoll.

Ein Vergleich dieser Daten mit MRT-Messungen an Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma ist darüber hinaus interessant, da auch hier eine Heterogenität der Aussagen bezüglich des Blut-Hirn-Schrankendefektes besteht. [Lang et al., 1991](#) zeigten an 7 SHT-Patienten, die zwischen einem und vier Tagen nach Trauma untersucht wurden, keine signifikante Blut-Hirn-Schrankenstörung, drei Patienten, die nach sechs oder mehr Tagen untersucht wurden, zeigten aber entsprechende 'enhancements'. [Kushi et al., 1994](#) hingegen fand in einer Untersuchung an 10 Patienten signifikante Permeabilitätsstörungen auch innerhalb der ersten zwei posttraumatischen Tage. Diese Messungen wurden zwei bzw. vier Stunden nach Triple-Dose (0.3 mMol / kg KG)-Kontrastmittelinjektion durchgeführt.

#### 4.2.4 Diffusionsgewichtete Bildgebung

Diffusion wird häufig als Umverteilung von Molekülen aus hohen Konzentrationsbereichen in Bereiche niedriger Konzentrationen verstanden. Allerdings ist die molekulare Triebkraft der Diffusion nicht ein bestehender Konzentrationsgradient, sondern ausschliesslich die Brownsche Molekularbewegung, die den zufälligen, thermischen, translationalen Teilchentransport beschreibt. Somit findet Diffusion auch in Abwesenheit eines Konzentrationsgefälles statt, die dann als Eigendiffusion bezeichnet wird. In dem Modell des 'random walk' wird die Wahrscheinlichkeit einer Molekülbewegung über die Strecke  $r$  in einer gegebenen Zeit  $t$  betrachtet. In einer entsprechend großen Molekülpopulation einer Flüssigkeit ist diese im Mittel gleich Null, da die Wahrscheinlichkeit für die Molekularbewegungen in allen Raumrichtungen gleich groß ist. Die Varianz dieser Verteilung wird durch die Einstein-Smoluchowski Gleichung beschrieben ( $r$  mittlere freie Weglänge,  $D$  Diffusionskonstante,  $t$  Zeit):

$$\langle r^2 \rangle = 6Dt \quad (4.21)$$

Während die rotatorischen Komponenten der Molekularbewegungen einen Einfluß auf die T1 und T2-Zeiten nehmen, erfasst die diffusionsgewichtete Bildgebung die Translationskomponente und wird durch den Zusatzterm zu Gleichung 4.22 beschrieben.

$$S = \underbrace{\rho_0}_{\text{Protonendichte}} \underbrace{(1 - e^{-TR/T1})}_{\text{T1-Term}} \underbrace{(e^{-TE/T2})}_{\text{T2-Term}} \underbrace{(e^{-\sum_{i=x,y,z} b_i D_{ii}})}_{\text{Diffusions-term}} \quad (4.22)$$

Die Diffusionswichtung wird apparativ durch eine Pulssequenz erzielt, in der neben den üblichen Bildgebungsgradienten ein starkes, gepulstes Gradientenpaar eingestreut wird. Der erste, dephasierende Gradient markiert die Wassermoleküle positionsabhängig mit einem definierten Phasenwinkel. Der zweite Gradient führt nach einer Diffusionsdauer  $\Delta$  zu einer Rephasierung der ortsständigen Protonen, während die inzwischen diffundierten Protonen durch die fehlende Rephasierung nur noch zu einem verminderten Signal beitragen können ([Buxton et al., 1996](#); [Le Bihan & Turner, 1986](#)).

In der mittels der TOMIKON-Software durchgeführten Lubeluzol-Studie stand nur die stimulierte Echo-Sequenz STED (Abbildung 4.12) als diffusionswichtige Methode, mit der Pulsfolge  $\pi/2 - TE/2 - \pi/2 - TM - \pi/2 - TE/2 - AQ$ , zur Verfügung.

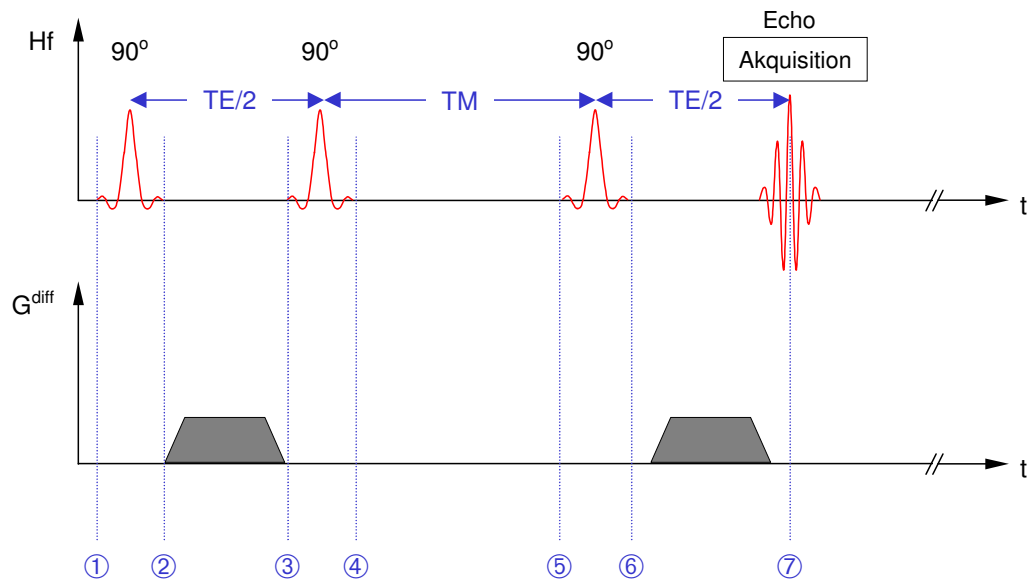


Abbildung 4.12: Prinzip der stimulierten Echo-Methode: 1 - 2:  $\pi/2$ -Anregungspuls, 3 - 4:  $\pi/2$ -Puls zur Überführung in die Longitudinalmagnetisierung, zwischen 2 - 3: diffusionswichtender Dephasierungsgradient. 5 - 6:  $\pi/2$ -Rückführungspuls, 7: Echobildung, zwischen 5 - 6: diffusionswichtender Rephasierungsgradient.

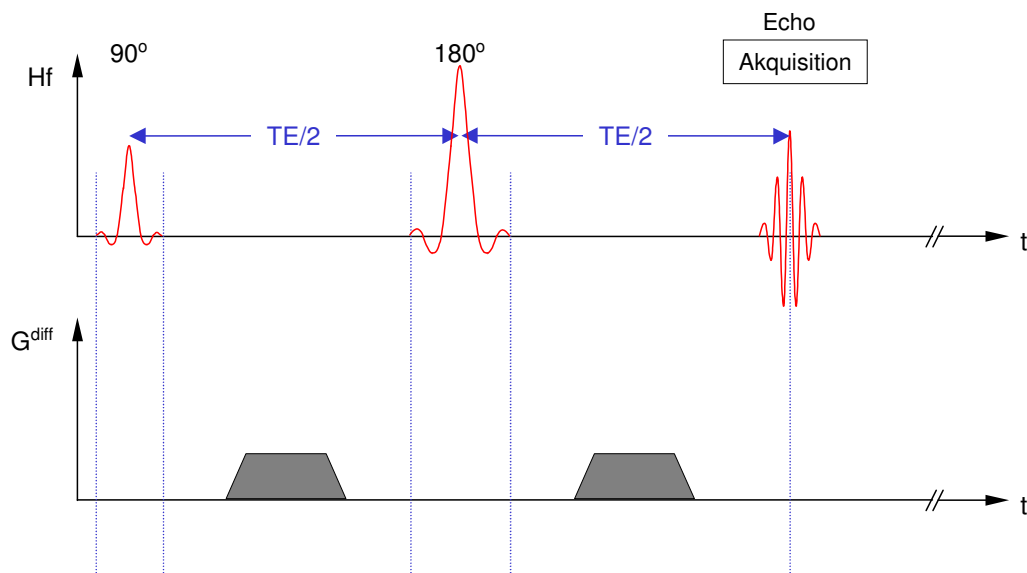


Abbildung 4.13: Prinzip der Spin-Echo-Methode

Eine einfache Spin-Echo-Sequenz  $\pi/2 - TE/2 - \pi - TE/2 - AQ$  (Abbildung 4.13) erfordert zur Unterbringung der hinreichend diffusionswichtigen Gradienten relativ lange



TE-Zeiten, woraus ein entsprechender T2-Abfall mit Schwächung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses resultiert. Dagegen wird in der stimulierten Echo-Methode durch den zweiten 90°-Puls die Transversalkomponente in eine longitudinale überführt.

Diese Longitudinalmagnetisierung unterliegt somit keinem weiteren T2-Zerfall. Die nun wirksame T1-Zerfallsrate fällt aufgrund der - gegenüber dem T2-Wert - langen T1-Zeit nur marginal ins Gewicht. In der bis zum dritten 90°-Puls andauernden, sogenannten 'mixing-time' (TM), kann nun ohne nennenswerte T2-Dephasierung eine entsprechend lange Diffusionszeit wirken. Dieser Puls führt die in der ersten TE/2-Zeit generierte, lokale Dephasierung zurück und generiert nach TE/2 ein Echo. Dem Vorteil dieser stark diffusionswichtenden Sequenz, die die gegenüber der T1-Zeit kurze T2-Zeit der Hirnsubstanz berücksichtigt, steht jedoch das Problem der Halbierung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses entgegen, wie Abbildung 4.14 erläutert.

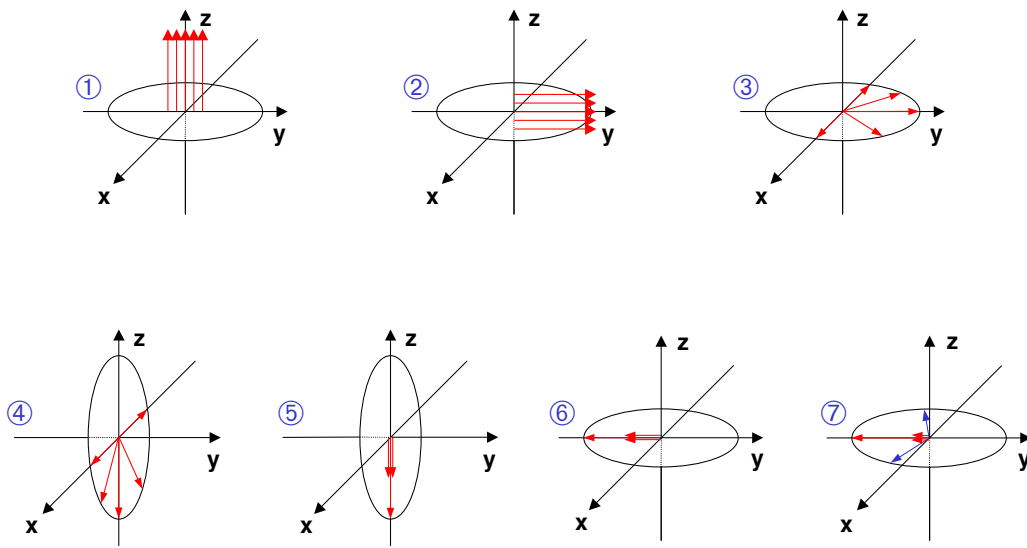


Abbildung 4.14: Die STED-Sequenz bedingt einen Signalverlust von 50 % im Vergleich zur SE-Diffusion-Sequenz. Veranschaulicht an 5 Einzelspins (1) eines Voxels<sup>6</sup>, werden diese durch den ersten  $\pi/2$ -Puls in die Transveralebene gekippt (2), in der sie unter dem Einfluß des Gradienten dephasieren (3). Der zweite  $\pi/2$ -Puls dreht nur die im rotierenden Koordinatensystem in y-Richtung präzedierenden Vektorkomponenten in die Longitudinale (4), die übrigen dephasieren irreversibel (5) bis zum Ende der TM-Zeit. Zum Echo-Signal nach dem dritten  $\pi/2$ -Puls tragen wiederum nur die y-Anteile der Vektorkomponenten bei (6), die betragsmäßig gleichen, aber gegensinnigen x-Komponenten kompensieren sich (7).

Daher bedurfte es bei der Parametrisierung der STED-Pulsfolge hinsichtlich der Optimierung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses besonderer Aufmerksamkeit, um die zeitaufwendigen Mittelungen zur Verbesserung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses weiterhin gering halten zu können. In die Sequenzparametrisierung gehen im Wesentlichen die 'repetition time' (TR), 'number of averages' (NoA) und die Anzahl der Phasenkodierungen in die Meßzeit einer Einzelwichtung ein. Sie bestimmen zusammen mit dem 'field of view' (FOV) und der Schichtdicke (SD) das Signal-zu-Rausch Verhältnis. Diese Meßzeit ist aber noch mit der Zahl der Diffusionswichtungen zu multiplizieren, die aufgrund der in Abschnitt



2.6.3 erörterten Zusammenhänge auf vier Stützstellen festgelegt wurde.

Nach Gleichung 4.23 wächst die Signalintensität  $S$  asymptotisch mit TR, während die Gesamtmeßzeit TT linear mit TR ansteigt. In Voruntersuchungen wurde daher der Effekt einer Verdoppelung von TR=500 ms auf TR=1000 ms, bei gleichzeitiger Halbierung der Mittelungen (von NoA = 4 auf NoA =2), d. h. bei somit identischer Gesamtmeßzeit, hinsichtlich des SNR untersucht. Dazu wurden entsprechend Tabelle 4.2 unter Konstanthaltung aller übrigen Parameter TR und NoA variiert. Anhand von Signalmessungen im Gewebe und Rauschmessungen an den Endpunkten der Bilddiagonalen wurde das SNR bestimmt.

Experimentelles Signal-zu-Rausch Verhältnis (SNR)			
Parameter	Gesamtzeit (TT)	Signal-zu-Rausch Verhältnis	$\Delta$ SNR
TR = 500 ms NoA = 4	34 min 28 s	$7.4 \pm 0.2$	20 %
TR = 1000 ms NoA = 2	34 min 28 s	$8.9 \pm 0.4$	
Theoretisches SNR			
T2-Term	Average-Faktor	relatives Signal-zu-Rausch Verhältnis	$\Delta$ SNR
TR = 500 ms T1 = 1100 ms	$\sqrt{2}$	0.52	15 %
TR = 1000 ms T1 = 1100 ms	1	0.60	

Tabelle 4.2: Abhängigkeit der Signalintensität von TR und NoA unter Konstanthaltung der Gesamtmeßzeit (TT).

Durch die Verdoppelung von TR auf 1000 ms konnte ein 20 %iger Signalzuwachs bei gleicher Messzeit erreicht werden.

Ein Vergleich mit dem theoretischen Signalzuwachs nach Gleichung 4.23, mit T2 = 1100 ms und T2 = 76 ms für den T1-Term, wie es für das Gehirn von Ratten tabelliert ist (Bottomley *et al.*, 1984), zeigt einen größenordnungsmäßig vergleichbaren Wert von 15 %. Die durch die Verdopplung der Mittelungen erzielte Verbesserung des SNR im Experiment wird durch den Faktor von  $\sqrt{2}$  ausgeglichen, dem theoretischen Signalzuwachs bei Verdopplung der Mittelungen, gemäß  $\text{SNR} \sim \sqrt{\text{NoA}}$ .

$$S = \rho_0 \underbrace{(1 - e^{-TR/T1})}_{\text{T1-Term}} \underbrace{(e^{-TE/T2})}_{\text{T2-Term}} \quad (4.23)$$

In den 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen wurde anstelle der in der Lubeluzol-Studie adaptierten STED-Sequenz die SE-Diffusionssequenz eingesetzt. Zum Erzielen einer zur Lubeluzol-Studie vergleichbaren Diffusionswichtung wurde eine Diffusionsgradientendauer von 21.5 ms gewählt. Die daraus resultierende minimale Echozeit betrug damit 56.4 ms, mit  $TE/2 = 28.4$  ms.

### 4.2.5 ADC-Berechnung

Je nach Anzahl der Diffusionswichtungen  $n$  lassen sich die ADC-Werte entsprechend Gleichung 4.22 für  $n = 2$  nach

$$D(x, y, z) = -\ln \left( \frac{S_i(x, y, z)}{S_j(x, y, z)} \right) / (b_i - b_j) \quad (4.24)$$

bestimmen, bei  $n \geq 3$  anhand

$$D_i(x, y, z) = \frac{\sum_i b_i S_i(x, y, z) - \sum_i b_i \sum_i S_i(x, y, z)}{\sum_i b_i^2 - (\sum_i b_i)^2} \quad (4.25)$$

Die Genauigkeit der berechneten ADC-Map hängt von der Anzahl der zugrundeliegenden Stützstellen  $b_{n-1}, \dots, b_0$  ab, also von der Anzahl der diffusionsgewichteten Bilder. Eine Steigerung der Genauigkeit geht jedoch mit einem linear anwachsenden Zeitbedarf für die Akquisition weiterer diffusionsgewichteter Bilder einher, so daß hier ein sinnvoller Kompromiß zu wählen ist.

Während eine einfache Zweipunktmessung  $n = 2$  nur zu unzureichender Genauigkeit führt, ist die Dreipunktmessung aufgrund folgender Überlegung nicht sinnvoll. Die auf dem Bruker Biospec verfügbare STED-Sequenz ermöglicht zwar die freie Wählbarkeit der Diffusionswichtung  $b_{n-1}$ , verteilt aber die einzelnen Wichtungen  $b_i$  zwischen  $b_0$  und  $b_{n-1}$  äquidistant. Bei der Minimierung der Fehlerquadrate unter Annahme äquidistanter Stützstellen bewirkt jedoch bei  $n = 3$  der zweite Wert  $S_1$  lediglich eine Parallelverschiebung der durch  $S_0$  und  $S_2$  vorgegebenen Geradensteigung  $D$  mit Änderung des Ordinatenabschnittes  $S$ , was sich wie im folgenden gezeigt nachvollziehen läßt:

Die Summe der Fehlerquadrate,  $\psi(D, S)$

$$\psi(D, S) = \sum_{i=0}^{n=2} (Db_i + S - S_i)^2 \quad (4.26)$$

läßt sich minimieren, indem die partiellen Ableitungen von  $\psi(D, S)$  nach  $D$  und  $S$  zu Null gesetzt werden:

$$\frac{\partial \psi}{\partial D} = 2 \sum_{i=0}^{n=2} (Db_i^2 + Sb_i - S_i b_i) = 0 \quad (4.27)$$

bzw.

$$\frac{\partial \psi}{\partial S} = 2 \sum_{i=0}^{n=2} (Db_i + S - S_i) = 0 \quad (4.28)$$

Aus diesem Gleichungssystem ergibt sich dann nach Umstellung:

$$D = \frac{S_2 - S_0}{2\Delta b} \quad (4.29)$$

mit  $\Delta b = b_{i+1} - b_i$ , was zeigt, daß der Meßwert  $S_1$  keinen Einfluß auf die Geradensteigung hat und somit zu keiner Verbesserung im SNR der ADC-Map führt.

Diese softwaremäßige Restriktion kann man entweder durch die zeitaufwendige Aquisition einer weiteren Stützstelle  $n = 4$  vermeiden oder aber durch Berücksichtigung der durch die logarithmische Abhängigkeit wachsenden Fehlerbalken der einzelnen ADC-Meßwerte aus den stärker gewichteten Bildern umgehen. Die, bei identischem Fehler für die unterschiedlichen Stützpunkte, in Gleichung 4.25 eliminierbaren Fehlerterme  $\sigma_i$  wurden bei einer digitalen Bandbreite von 256 auf  $\sigma_i = \ln(S_i + 256) - \ln(S_i)$  gesetzt und in Gleichung 4.30 entsprechend berücksichtigt.

$$D_i(x, y, z) = \frac{\sum_i \frac{b_i^2}{\sigma^2} \sum_i \frac{S_i(x, y, z)}{\sigma^2} - \sum_i \frac{b_i}{\sigma^2} \sum_i \frac{b_i S_i(x, y, z)}{\sigma^2}}{\sum_i \frac{1}{\sigma^2} \sum_i \frac{b_i^2}{\sigma^2} - \left(\sum_i \frac{b_i^2}{\sigma^2}\right)^2} \quad (4.30)$$

Dieses entspricht im Prinzip einer geringeren Wichtung der stärker diffusionsgewichteten Bilddaten und soll mit der Skizze aus Abbildung 4.15 verdeutlicht werden.

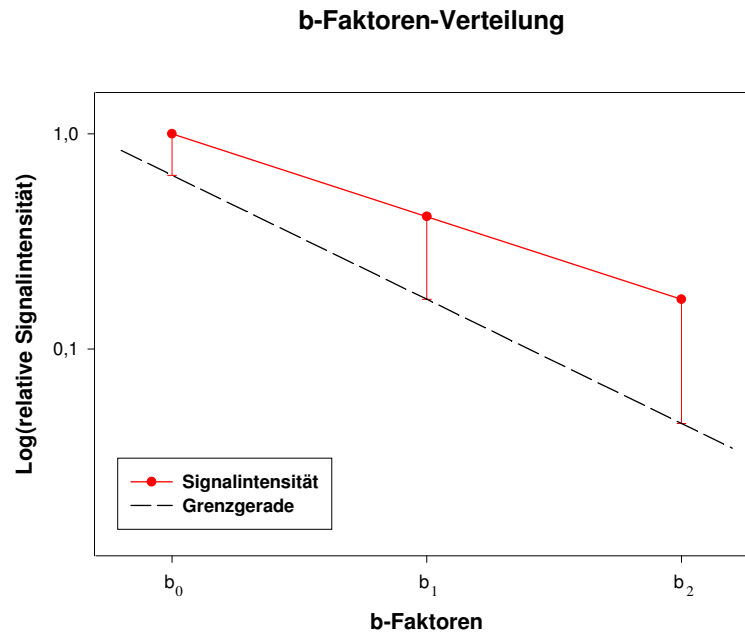


Abbildung 4.15: Isodistante b-Faktoren-Verteilung

Als optimale b-Werte für die Diagnostik ischämischer Läsionen wurde von Benfield *et al.*, 1997 der Bereich von 883 - 1271 s/mm<sup>2</sup> angegeben, was größenordnungsmässig dem in dieser Arbeit gewählten Diffusionswichtungen entspricht.

### Interpretation der ADC-Werte

Die Experimente zur Bestimmung der Diffusionskonstanten verschiedener Lösungsmittel nach Korrektur durch die 'cross-terms', sowie die Meßreihe bezüglich der Temperaturabhängigkeit der Diffusionskonstanten (Hasegawa *et al.*, 1994) zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Literaturdaten. Daher ist die diffusionsgewichtete MR-Bildgebung geeignet, Diffusionskonstanten mit hinreichender Genauigkeit abzubilden.

Zu den unterschiedlichen Modellen der Ischämie- und Infarktinduktion bei Ratten liegen zahlreiche Literaturdaten vor (Mintorovitch *et al.*, 1991, Pierpaoli *et al.*, 1993, Hoehn-Berlage, 1995). Werden diese Daten mit den apparenten Diffusionskonstanten gesunder Hirnsubstanz, sowie der von Infarktarealen in den hier an Ratten nach MCA-Okklusion durchgeführten Messungen verglichen, so kann eine hinreichende Stabilität und Validität der eingesetzten Diffusionssequenzen abgeleitet werden.

Bei einer größenordnungsmäßig über 100 ms andauernden Diffusionswichtung dieser Bildgebung liegt die Diffusionsstrecke des Wassers im Größenbereich biologischer Zellstrukturen. Die in der Diffusionswichtung erfasste Wasserdiffusion stellt somit einen interessanten Parameter zur Interpretation der Gewebestruktur auf mikroskopischer Ebene dar, zumal dieser somit auch deutlich unter der strukturellen Auflösungsgrenze der MRT-Methodik liegt. Darüber hinaus gewinnt die Bestimmung der ADC-Werte an Bedeutung, da in biologischen Systemen keine *freie* Diffusion vorliegt. Denn durch die Zellstrukturen werden entsprechende Diffusionsrestriktionen aufgebaut, die einem 'random walk' entgegenstehen. Wie in Abbildung 4.16 skizziert, ist bei restringierter Diffusion die mittlere freie Weglänge beschränkt.

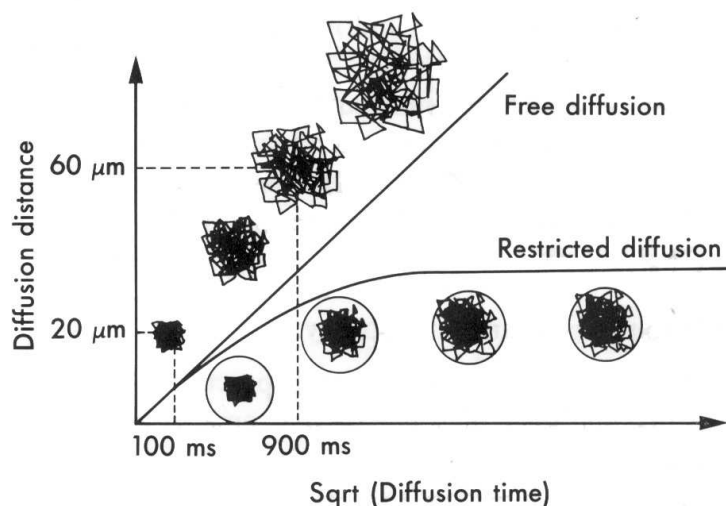


Abbildung 4.16: Freie und restringierte Diffusion gemäß der Einstein-Relation, aus Stark & Bradley, 1986.

Da biologische Membranen eine gewisse Wasserpermeabilität zeigen, wird das Diffusionsverhalten intra- und extrazellulären Wassers sich zwischen den beiden Verläufen in Abbildung 4.16 bewegen. Wird die Diffusion darüber hinaus nicht in allen drei Raumrichtungen gleich stark restringiert, wie es beispielsweise innerhalb der Faserstruktur der weißen Substanz der Fall ist, liegt eine anisotrope Diffusion vor. Gleichung 4.22 trägt diesem Sachverhalt Rechnung, indem die Diffusionskoeffizienten über einen Tensor dargestellt werden, bei dem die Diagonalelemente  $D_{xx}$ ,  $D_{yy}$ ,  $D_{zz}$  die Diffusionskoeffizienten der drei Raumrichtungen beschreiben. Untersuchungen der Anisotropie, die insbesondere auch in Hinblick auf einen diffusen Axonschaden von Interesse wären, erfordern entsprechend Messungen mit Gradientenfeldern in den drei Raumrichtungen. In den vorgestellten Experimenten wurde dieser Fragestellung aufgrund der dadurch deutlich verlängerten Diffusionssequenzen nicht nachgegangen. Die Wahl des Diffusionsgradienten in transversaler, und damit im

Bereich des Traumas weitgehend paralleler Richtung zum Hauptfaserverlauf der weißen Substanz hatte zum Ziel, eine Störung der Faserstruktur möglichst effektiv zu erfassen. Der ADC-Wert normaler Hirnsubstanz wird nach [Zijl et al., 1991](#) und [Benveniste et al., 1992](#) als gewichtetes Mittel der Diffusionsverhältnisse der extra- und intrazellulären Kompartimente verstanden. Nach [van Harrefeld et al., 1965](#) und [Matsuoka & Hossmann, 1982](#) machen der extrazelluläre Raum 80 %, der intrazelluläre 20 % des Wasseranteils im Gehirn aus. Zijl gibt den ADC-Wert des intrazellulären Wassers mit  $D_{in} = 3.25 \times 10^{-3} \text{mm}^2 \text{s}^{-1}$ , den des extrazellulären Mediums mit  $D_{ex} = 1.43 \times 10^{-4} \text{mm}^2 \text{s}^{-1}$  an, aus dem sich entsprechend ein arithmetischer Mittelwert nach Gleichung 4.31 von  $D_{av} = 0.76 \times 10^{-3} \text{mm}^2 \text{s}^{-1}$  ergibt.

$$D_{av} = 0.8 \times D_{in} + 0.2 \times D_{ex} \quad (4.31)$$

Während der ADC-Abfall als Ausdruck eines zytotoxischen Ödems infolge eines hyperakuten, ischämischen Ereignisses als weitgehend anerkannt gilt, werden hinsichtlich der zugrundeliegenden Ursachen ein breites Spektrum an pathophysiologischen Mechanismen diskutiert:

- nach [Mintorovitch et al., 1991](#) und [Moseley et al., 1990b](#), [Moseley et al., 1990a](#) ein erhöhtes, intrazelluläres Wasservolumen,
- nach [Hasegawa et al., 1996](#) ein verminderter Extrazellularraum,
- nach [Neil et al., 1996](#) eine zunehmende intrazelluläre restringierte Diffusion,
- nach [Nicholson, 1993](#) eine verminderte Membranpermeabilität für Wasser bei Membrandepolarisation.

Gegenwärtig werden die beiden erstgenannten Punkte am nachhaltigsten diskutiert. Ursächlich angenommen für das zytotoxische Ödem werden ([Siesjö, 1992](#)):

- eine Stimulation der anaeroben Glycolyse mit intrazellulärer Akkumulation osmotisch aktiver Teilchen, sowie
- der Zusammenbruch der Aktivität energieabhängiger Ionenpumpen, die den intra-/extrazellulären Ionengradienten aufrecht erhalten, mit konsekutiv massiven  $\text{K}^+$ -Efflux sowie  $\text{Na}^+$ -Influx, begleitet von intrazellulärem Wassereinstrom.

Da es bei den Modellen zerebraler Ischämie in den ersten postischämischen Stunden zu keinem Nettozustrom an Wasser ins Gehirn kommt, sondern nur zu einer Umverteilung von extra- nach intrazellulär, bleiben die T2-Zeiten unverändert ([Loubinoux et al., 1997](#)), die ADC-Erniedrigung geht einer T2-Intensitätserhöhung um mindestens zwei bis drei Stunden voraus ([Moseley et al., 1990b](#)). Hierin unterscheidet sich die Situation in den vorliegenden Traumastudien grundsätzlich. Bereits in der frühen postraumatischen Phase, nach 90 Minuten, zeigte sich eine deutliche Hyperintensität im T2-gewichteten Bild, die an Größe und Intensität bis zu 48 Stunden nach Trauma anstieg, und als vasogene Ödemkomponente durch einen frühen Nettoeinstrom an Wasser in das Gewebe zu interpretieren ist. Da es gleichzeitig zu einer Erniedrigung der ADC-Werte, die bis zu einer Pseudonormalisierung zwischen 24 Stunden und 48 Stunden nach Trauma anhält, kommt, scheint es

nach arithmetischer Mittelung (Gleichung 4.31) zu einem effektivem Überwiegen des zytotoxischen Ödemeffektes zu kommen. Der Begriff *Pseudonormalisierung* impliziert dabei, daß der ADC-Wert zwar numerisch dem gesunder Areale entspricht, dieses Gewebe aber in unmittelbarem Verlauf nekrotisch wird. Dieses setzt aber voraus, daß z. B. die bereits initial erhöhten intrazerebralen Druckwerte (siehe 3.44) mit beginnender Mittellinienverlagerung (Abbildung 3.46) keinen Einfluß auf das extrazelluläre Diffusionsverhalten des Wassers zeigten. Die Pseudonormalisierung der ADC-Werte wurde in dem Traumamodell, in Analogie zu Infarktuntersuchungen, nach 24 - 48 Stunden beobachtet. Der makroskopische Aspekt der Läsion nach 7 Tagen entspricht dem einer Gliosis mit einem verflüssigten, nekrotischen Anteil.

Ein wichtiges Konzept sowohl in der Infarkt- als auch der Trauma-Pathophysiologie beschreibt der Begriff der Penumbra<sup>7</sup>. War der Begriff ursprünglich von Astrup *et al.*, 1981 als ein den Kern umgebene Zone beeinträchtigter elektrischer Aktivität und verminderter Perfusion geprägt, so nutzen ihn Memezawa *et al.*, 1992 zur Beschreibung einer potentiell zu rettenden Gewebzone, Hossmann, 1994 als Areal noch aufrechtzuerhaltenden Energiestoffwechsels, Pulsinelli, 1992 als Gebiet vorübergehend gestörten Metabolismus und Hoehn-Berlage *et al.*, 1995 als Ort erhöhter Laktatkonzentration. Ohne eine neue Definition hinzufügen zu wollen, ist in den T2-gewichteten und Diffusionswichtungen (Abbildung 3.58) jeweils eine, einen zentralen Kern umgebende Zone abzugrenzen. Anhand der Intensitätsverteilungen des Kontusionsrandes in der T2-gewichteten Bildgebung ließe sich dieser Kontusionsrand auch als Partialvolumeneffekt deuten. Partialvolumeneffekte treten in der MRT- (und auch CT-) Bildgebung immer dann auf, wenn ein Voxel im Übergangsbereich zweier Gewebetypen liegt und somit die mittlere Intensität dieses Quaders dargestellt wird.

Nun kommt aber das Areal des Kontusionsrandes als ein eigener Cluster zur Darstellung (s. Abbildung 3.58), und insbesondere nimmt der apparente Diffusionskoeffizient dieser Zone nicht einen mittleren Wert zwischen gesunder und kontusionierter Hirnsubstanz ein, sondern liegt deutlich oberhalb beider Gewebeeigenschaften. Somit zeigt der Kontusionsrand eine eigene Charakteristik und schließt einen Partialvolumeneffekt als Ursache für die Gewebedifferenzierung zwischen zytotoxischen und vasogenen Ödemformen aus.

### 4.3 7-Tage-Verlaufsuntersuchungen

Als Resümee der Abschnitte 4.2.2 bis 4.2.5 läßt sich die Dynamik der Traumaentwicklung anhand der T2-, diffusions- und T1-gewichteten Bildgebung (Abbildung 3.62 und 3.63) wie folgt interpretieren: Bedingt durch die Blut-Hirn-Schrankenstörung wie sie die T1-Bildgebung zeigt, kommt es bereits 90 Minuten nach Trauma zur Ausbildung eines im T2-gewichteten Bild sichtbaren, vasogenen Ödems mit einem Nettoeinstrom freien Wassers in das interstitielle Gewebe. Im Randbereich der Kontusion geht das vasogene Ödem entsprechend mit einem Anstieg des apparenten Diffusionskoeffizienten einher. Hinsichtlich des ADC-Wertes im Kontusionskern wird das vasogene Ödem von einer gleichzeitig auftretenden zytotoxischen Komponente überlagert, was zu einem effektiven Abfall der Diffusionskonstanten unter die des gesunden Gewebes führt. Diese Entwicklung hält etwa 24 - 48 Stunden nach der Kontusion an. Während der Kontusionsrand auch noch nach

---

<sup>7</sup>Penumbra (engl.), Halbschatten



7 Tagen durch eine, jetzt ausgeprägtere vasogene Ödemkomponente charakterisiert wird, geht der Kontusionskern in eine verflüssigte, also etwa liquorisointense Nekrose über, wie es durch den raschen Anstieg des ADC-Wertes impliziert wird.

Während die diffusionsgewichteten Verlaufsuntersuchungen von [Albensi et al., 2000](#) nach einem im Fluid-Percussion Modell induzierten Trauma an der Ratte die späte Umwandlung in eine verflüssigte Nekrose stützen, verliefen die frühen ADC-Änderungen z. T. gegenläufig. Zwar wurden in diesem Modell ebenfalls im zur Traumaseite ipsilateralen Cortex, Thalamus und Hippocampus frühzeitige (1 - 2 Stunden nach Trauma) ADC-Erniedrigungen gesehen, in dem eigentlichen Läsionsareal jedoch wurden nicht signifikante ADC-Erhöhungen gemessen. Der Signalanstieg in der T2-Wichtung wurde ebenfalls nach 3 - 4 Stunden beschrieben, jedoch noch nicht in der frühesten posttraumatischen Messung nach 1 - 2 Stunden. Weitere, ebenfalls im 'fluid-percussion'-Modell bestimmte Daten zeigten keine einheitliche Tendenz: während [Hanstock et al., 1994](#) in Messungen 1 und 4 Stunden nach Trauma eine Erhöhung der ADC-Werte ohne Änderung des T2-Intensitäten findet und dieses als Nachweis vasogenen Ödems interpretiert, wurde in dem gleichen Modell durch [Alsop et al., 1996](#) eine Erniedrigung der ADC-Werte gezeigt, die von einem signifikanten Anstieg der T2-Intensitäten in dem Untersuchungszeitraum von 45 - 150 Minuten einhergeht. Die Untersuchungen von [Assaf et al., 1997](#) und [Assaf et al., 1999](#) wurden an einem geschlossenen Traumamodell 1 Stunde, 24 Stunden und 7 Tage nach Trauma durchgeführt und sind zu den Ergebnissen der eigenen Arbeit weitgehend konform: Neben der bereits nach 1 Stunde nachweisbaren Hyperintensität im T2-gewichteten Bild konnte ein Absinken der apparenten Diffusionskoeffizienten bis zum 24-Stunden-Meßpunkt gezeigt werden, nach 7 Tagen wurde eine ADC-Erhöhung nachgewiesen. [Barzo et al., 1997](#) fanden in dem 'weight drop'-Modell an der Ratte innerhalb der ersten Stunde einen 10 %igen ADC-Anstieg und einen sukzessiven Abfall über 7 bis 14 Tage. In dem gleichen Modell konnten von [Ito et al., 1996](#) in den ersten 4 Stunden nach Trauma keine ADC-Änderung ermittelt werden. Ging das Trauma allerdings mit einer hypoxischen und hypotensiven Phase einher, so waren die ADC-Erniedrigungen signifikant. Anhand dieser Studien zeichnet sich ein sehr heterogenes Bild der posttraumatischen ADC- und T2-Intensitätsänderungen ab. Unterschiede sind eventuell auf die verschiedenen, zum Einsatz gekommenen Traumamodelle zurückzuführen, sind jedoch teils auch bei Verwendung gleicher Modelle offensichtlich. Ursächlich ist möglicherweise der erheblich komplexere traumatische Sekundärschaden, im Vergleich zur Situation der Infarktinduktion, die unabhängig von der Methodik weitgehend einheitlich eine ADC-Abnahme in dem Infarktareal beschreibt. Damit könnten auch geringe Differenzen im Studiendesign, z. B. kontrollierte Beatmung vs. Spontanatmung oder Unterschiede in Traumastärke oder Narkoseformen Änderungen zur Folge haben. Konsistent jedoch ist in allen Studien, die sich über mindestens 7 Tage erstrecken, der deutliche ADC-Anstieg im Läsionsareal, der als verflüssigte Nekroshöhle oder reaktive Gliose interpretiert wird.

Die Schwierigkeiten der Volumetrie entsprechender Kontusionsareale wurden von [Loubinoux et al., 1997](#) diskutiert, die die durch Schwellung und Mittellinienverlagerung erschwerte Vergleichbarkeit identischer Gewebeareale beschreiben. Somit bleibt offen, ob höher aufgelöste MRT-Studien, beispielsweise durch den zeitaufwendigen Einsatz einer  $512 \times 512$  Matrix auch zu späteren Untersuchungszeiten, etwa nach 10, 14 und 20 Tagen klären könnten, ob der Kontusionsrand im Sinne einer Penumbra durch geeignete Therapiestrategien zu retten wäre.

## Zerebraler Blutfluß und Metabolismus

Ein weiterer, wichtiger Parameter zum Verständnis der Pathophysiologie der zerebralen Perfusion stellt der lokoregionäre, zerebrale Blutfluß dar. Gemessen mit autoradiographischen (Kochanek *et al.*, 1995), Laser-Dopplerspektroskopischen (Bryan *et al.*, 1995) und MRI-Techniken (Hendrich *et al.*, 1999; Assaf *et al.*, 1999) stellt sich hier hinsichtlich der posttraumatischen, relativen Perfusionsverhältnisse ein heterogenes Bild dar, bei allerdings eingeschränkter Vergleichbarkeit der Daten hinsichtlich der unterschiedlichen Zeitauflösung und Verschiedenartigkeit der eingesetzten Traumamodelle. So fanden Kochanek *et al.*, 1995 im kortikalem 'impact'-Modell lokale, auf das Kontusionareal beschränkte Perfusionsreduktionen, während im Fluid-Percussion (Yamakami & McIntosh, 1989) und 'weight drop'-Modell (Grundl *et al.*, 1994) globale Perfusionsstörungen beschrieben wurden. Bryan *et al.*, 1995 zeigten neben der von den übrigen Autoren beschriebenen posttraumatischen Hypoperfusion auch eine perikontusionelle Zone der zerebralen Hyperperfusion 30 Minuten nach Trauma, die nach 4 Stunden nicht mehr zu finden ist. Da die zerebrale Perfusion eng mit der Frage der Blut-Hirn-Schrankenöffnung oder dem zytotoxischen Ödem verknüpft ist, wäre die gleichzeitige Messung von perfusionsgewichteten Bilddaten zusammen mit den T2-, T1-, postkontrast-T1 und den diffusionsgewichteten Messungen sowie der berechneten ADC-Maps von erheblichem Interesse. Perfusionsgewichtete Sequenzen standen jedoch bei Studienbeginn noch nicht zur Verfügung.

Neben den kernspintomographischen Techniken besitzen auch die kernspinspektroskopischen Untersuchungen (Bo-Young *et al.*, 1995) eine zunehmende Bedeutung, die, bei jedoch verringerter räumlicher Auflösung, auch Aussagen über den zerebralen Metabolismus ermöglichen. Als Marker eines zerebralen Energiedefizits wäre die zeitaufgelöste Laktatkonzentrationsverteilung ein protonenspektroskopisch zugänglicher und interessanter Parameter (McIntosh *et al.*, 1987; Rubin *et al.*, 1997). Desweiteren wären Metabolite, wie N-Acetylaspartat, Cholin und Kreatin, die in der Hirnsubstanz in hinreichender Konzentration vorliegen, protonenspektroskopisch erfassbar. Mit einer entsprechenden Doppelresonanzspule (s. S. 103) ließen sich auch ohne die Neupositionierung der Versuchstiere die Energiemetabolite ATP, ADP, P<sub>i</sub> und Phosphokreatin in der Zeitentwicklung und orts aufgelöst verfolgen.



## 4.4 Lubeluzol

Der bei einem Schädel-Hirn-Trauma auftretende Primärschaden, der aus einem hämorrhagischen Kontusionsherd, Gefäßzerreißen und mechanischen Schädigungen der Nervenfasern ("diffuse axonal injury") bestehen kann, wird regelmäßig durch einen Sekundärschaden aggraviert (Gentry, 1994). Dieser ist die Folge einer mit dem Trauma einsetzenden, komplexen, sich z. T. selbstverstärkenden Kaskade, an der ein breites Spektrum unterschiedlicher Mediatoren beteiligt sind. Wie Abbildung 4.17 zeigt, stellen die Freisetzung von Glutamat als exzitotoxischer Aminosäure, sowie die  $\text{Ca}^{2+}$ -Liberation und die Bildung freier Radikale mit konsekutiver Lipidperoxidation, wichtige Teilaspekte dar. Ziel im therapeutischen Bemühen neuroprotektiver Strategien ist es, diese Kaskaden möglichst frühzeitig einzudämmen, um den Sekundärschaden zu limitieren und damit das 'outcome' des Patienten zu optimieren.

Die Blockade des NMDA-Rezeptors<sup>8</sup> als Angriffspunkt exzitotoxischer Aminosäuren stellt ein prominentes Beispiel einer neuroprotektiven Therapie dar. Die von Olney (Olney et al., 1971) postulierte exzitotoxische Wirkung des Glutamats, die über drei Ionenkanal-gekoppelte Rezeptoren, dem NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat), Kainat- und AMPA-Rezeptor, sowie über einen metabotropen, 'second-messenger'-gekoppelten Rezeptor ausgelöst wird, wird von zahlreichen tierexperimentellen Studien, wie auch von Patientendaten gestützt (Rothman & Olney, 1986). Die glutamatantagonistische Wirkung dieser Substanzen wird über verschiedene Mechanismen vermittelt. Es werden kompetitive NMDA-Rezeptor-Blocker (z.B. CGS19755, Selfotel®) von nicht-kompetitiven Antagonisten (z.B. MK801, CNS 1102) unterschieden, die als Ionenkanalblocker oder als Antagonisten verschiedener modulatorischer Bindungsstellen fungieren. Die posttraumatische, exzitotoxische, exzessiv glutamaterge Aktivierung postsynaptischer Neurone wird durch den massiven  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Influx, bzw.  $\text{K}^+$ -Efflux, sowie die metabotrope Überforderung bei der Wiederherstellung der ionalen Verteilung in Neuronen und Astrozyten erklärt. Verschiedene glutamatantagonistische Substanzen zeigten eine Reduktion der exzitotoxisch induzierten posttraumatischen Neuronendegeneration (Foster et al., 1987). Diese wurde durch den verringerten hippocampalen Neuronenverlust oder die signifikante Reduktion des Kontusionsvolumens nachgewiesen. Sie gaben somit Anlaß zur Hoffnung, hiermit therapeutisch einsetzbare Neuroprotektiva in der Hand zu haben, von denen einige bereits Einzug in klinische Studien bei schwerem Schädel-Hirn-Trauma gehalten haben. Die aus tierexperimentellen Studien begründeten Erwartungen wurden in entsprechenden klinischen Studien am Patienten jedoch bisher nicht erfüllt. So wurden z. B. aufgrund eines nicht signifikanten 'benefit-to-risk' zwei sich in klinischer Prüfung befindende Studien eingestellt.

Der molekulare Start-Mechanismus der glutamatvermittelten Exzitotoxizität besteht in dem  $\text{Na}^+$ - und wichtiger noch, dem  $\text{Ca}^{2+}$ -Influx. Der erhöhte intrazelluläre Calciumspiegel triggert eine Vielzahl weiterer 'second-messenger'-Subsysteme (Abb. 4.18), wie Phos-

---

<sup>8</sup>NMDA-Ionenkanal-Rezeptoren spielen eine fundamentale Rolle in der neuronalen Plastizität. Ein LTP (long term potentiation) beschreibt eine anhaltend erhöhte Effizienz einer synaptischen Transmission, die dadurch entsteht, daß die NMDA-Rezeptor-Aktivierung infolge synaptischer Erregung als 'Koinzidenzdetektor' nur bei bereits aktiviertem Neuron über 'second-messenger'-Systeme eine anhaltende, erhöhte Erregbarkeit bedingt. Die NMDA-Rezeptor-vermittelte Exzitotoxizität wird somit auch ursächlich für posttraumatische Störungen kognitiver Funktionen angenommen.

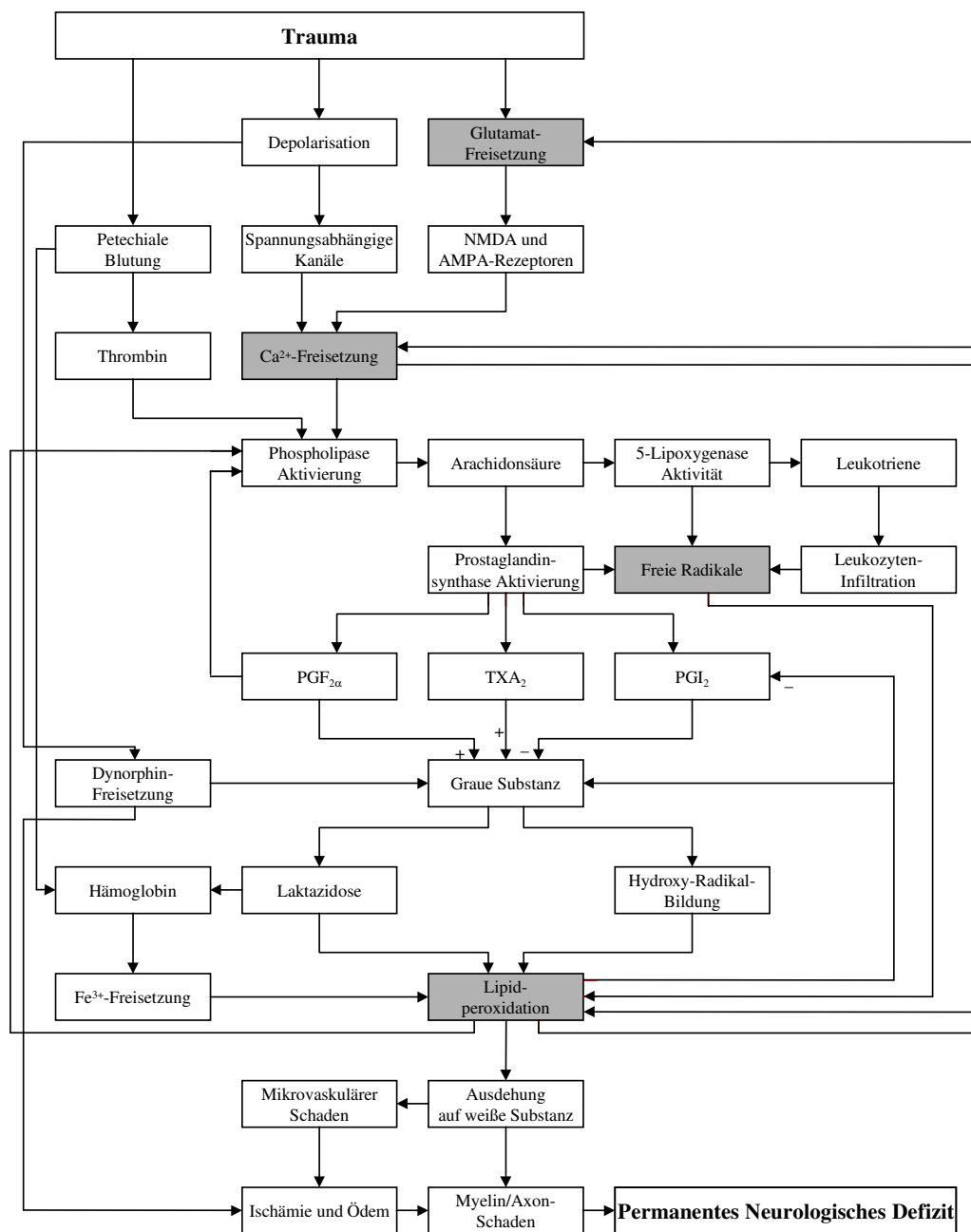


Abbildung 4.17: Mediatoren des Sekundärschadens. Aus Hall, 1996

pholipasen, Proteasen und Endonukleasen. Ein weiteres wichtiges Subsystem stellt die Calmodulin-vermittelte Aktivierung der NO-Synthase mit konsekutiver Stickstoffmonoxid (NO)-Bildung dar (Dawson *et al.*, 1991), die über den in Abbildung 4.18 skizzierten Weg mit freier Radikalbildung einen zytotoxischen Effekt aufweist. Der in Abbildung 4.19 dargestellte und von NADPH als Elektronendonator ausgehende Elektronentransfer über FAD und FMN zur Häm-Gruppe des NOS-Enzyms kann nur bei Bindung von Calmodulin an die NOS stattfinden. Die Hemmung der NO-Synthase erwies sich in verschiedenen Untersuchungen (Wada *et al.*, 1996 und Mesenge *et al.*, 1996) ebenfalls als neuroprotektiv. Neben verschiedenen NO-Synthase-Hemmern wie Nitro-L-Arginin (L-NA), Nitro-L-

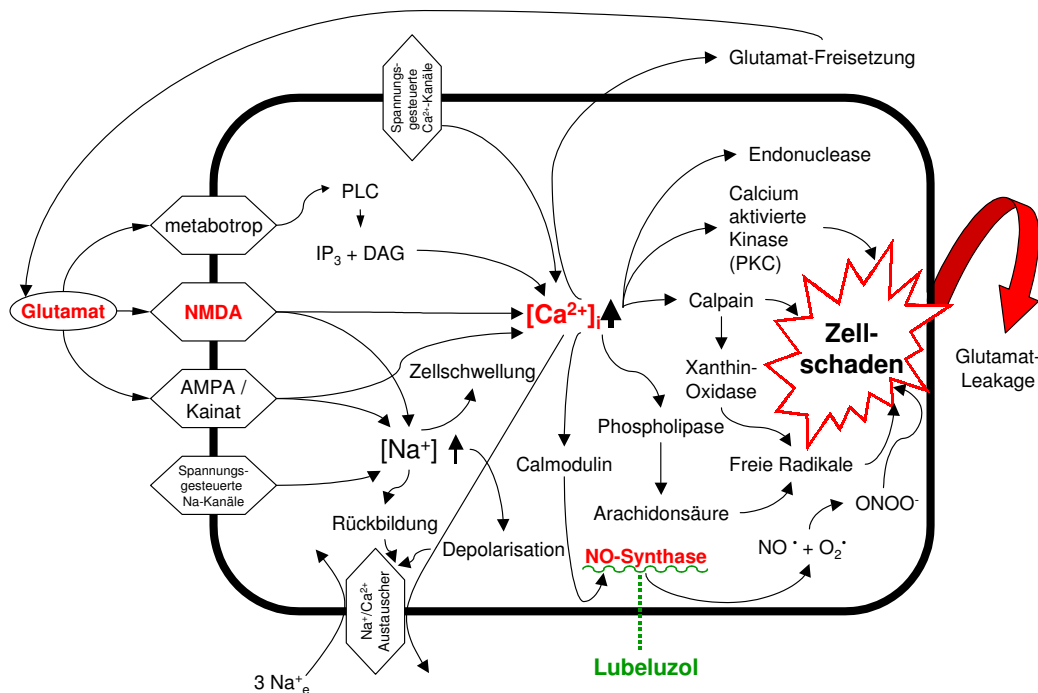


Abbildung 4.18: NO-Synthase-Aktivierung. Aus Gill, 1994

Argininmethylester (L-NAME), Aminoguanidin, 7-Nitroindazol (7-NI) oder ARL17477 konnte in experimentellen Ischämiestudien eine beachtliche neuroprotektive Potenz des NO-Synthase-Pathway-Modulators Lubeluzol (Prosynap, R9087926) belegt werden. Dieses S-Isomer des 3,4-Difluorobenzothiazol-Derivats (Abbildung 2.16) zeigt selber keine Affinität zur NO-Synthase. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß Lubeluzol stereospezifisch den Glutamat-aktivierten NO-Synthase Weg herunterreguliert (Lesage *et al.*, 1996) ohne als kompetitiver oder nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist zu fungieren (Ryck *et al.*, 1996), und stereospezifisch die durch NO-Donoren induzierte Neurotoxizität blockiert (Maiese *et al.*, 1997). Marrannes *et al.*, 1998 konnten ferner eine nicht stereospezifische  $Ca^{2+}$ -Kanal Blockierung nachweisen. Osikowska-Evers *et al.*, 1995 zeigten eine in submikromolarer Konzentration vorliegende  $Na^+$ -Kanal-Blockade. Geringe Affinität konnte auch zu 5-HT<sub>1A</sub>,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  und Histamin H<sub>1</sub>-Rezeptoren nachgewiesen werden (Lesage *et al.*, 1996). Die hinsichtlich Temperatur, Glukose-Konzentration, Blutdruck, Hämoglobinkonzentration und Blutgasparameter neutrale Verbindung konnte in einem photochemischen Infarkt-Modell an Wistar-Ratten ein funktionell deutlich besseres 'outcome', gemessen an der kontralateralen, taktilen und propriozeptiven Stellreaktion der Hinterpfote, der nach Infarktinduktion Lubeluzol-behandelten Tiere zeigen. Gleichzeitig wurde nach 4 Stunden, bzw. 7 Tagen eine Reduktion des Infarktareals um 22 %, bzw. 28 % beobachtet (Ryck *et al.*, 1996). In T2- und diffusionsgewichteten MRT-Untersuchungen wurde ein um 18 % verringerter Anstieg des Ödemvolumens unter Lubeluzol gezeigt und der ADC-Abfall in der periläsionellen Zone des Infarktes verringert (Ryck *et al.*, 2000). In dem Modell der *Arteria cerebri media* Occlusion an Long-Evans Ratten mit einer Okklusionszeit von zwei Stunden konnte bei einer Lubeluzoltherapie 15 Minuten nach Okklusionsbeginn ein um 50 % reduziertes Infarkt-Volumen, bei Beginn nach 30 Minuten noch eine 34 % Reduktion gefunden werden (Grotta, 1997a und Aronowski *et al.*,

1996). Eine inkomplette, globale Hypoxie nach bilateraler Carotis-Okklusion mit Hypotension an Wistar-Ratten zeigte einen um 24-34 % verminderten Verlust hippocampaler CA<sub>1</sub> Pyramidenzellen nach Lubeluzol-Behandlung (Haseldonckx *et al.*, 1997). Die Bestimmung mitochondrialer Pyruvat-Dehydrogenase-Aktivitäten (PDH) und Energiemetabolite (ATP, Phosphokreatin und Laktat) zeigte nach temporärer, bilateraler Carotis-Ligatur an mongolischen Wüstenrennmäusen nach Lubeluzol-Applikation eine im Vergleich zur Placebo-Gruppe mit Beginn der Reperfusion verringerte Laktat-Konzentration. Gleichzeitig kam es zur Erschöpfung der ATP und Phosphokreatin-Konzentrationen und einem deutlich erhöhten Anstieg der PDH-Aktivität in der Verumgruppe. Die Untersuchungen von Muramatsu *et al.*, 1996 weisen somit auf eine Protektion mitochondrialer Funktionen hin. Lubeluzol zeigte ferner eine Verringerung des zerebralen Ödems in einem In-Vitro-Modell, in dem Hippocampuschnitte in artifiziellm Liquor inkubiert, dem Natrium-Kanal-Öffner Veratridin ausgesetzt werden (Reempts *et al.*, 1996), sowie eine Normalisierung der neuronalen Erregbarkeit (Buchkremer-Ratzmann & Witte, 1997). Mikrodialyse-Untersuchungen ergaben einen nach Lubeluzol-Gabe perilesionell verringerten Glutamat- und Taurin-Konzentrations-Anstieg. Letzteres ist u. U. als Ausdruck eines verringerten osmotischen Stresses zu sehen (Scheller *et al.*, 2000). 1996 wurde eine doppelblinde, placebokontrollierte Phase-II-Studie für den Einsatz von Lubeluzol bei akutem Schlaganfall mit vielversprechendem Ergebnis abgeschlossen (Diener *et al.*, 1996). Das Ergebnis wurde jedoch von zwei 'follow-up', doppelblinden Multicenter-Studien nicht bestätigt. Die Studie von Diener, 1998 zeigte nur eine Signifikanz der verminderten Mortalität in der Subgruppenanalyse, Grotta, 1997b beschrieb ein signifikant verbessertes klinisches 'outcome' bei unveränderter Mortalität.

Da für den Einsatz von Lubeluzol im Modell der traumatischen Hirnschädigung noch keine Studien vorlagen, motivierten diese Daten zur Untersuchung der Substanz in dem Modell der kontrollierten, kortikalen Kontusion. Dieses Modell wurde zuvor eingesetzt, um die neuroprotektive Effekte des Radikalfängers OPC-14117 (Mori *et al.*, 1998), dem nichtkompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten Aptiganel (Kroppenstedt *et al.*, 1998) und dem hypothalamischen Neuropeptid, dem Corticotrophin releasing factor (Beaumont & Marmarou, 1998), nachzuweisen.

Absehen von dem in der T2-Wichtung 90 Minuten nach Trauma deutlich vergrößerten Ödemvolumens in der Verumgruppe gegenüber der Placebogruppe, gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der in dieser Studie untersuchten Parameter: ICP, MABP und CPP, der hemisphäralen Schwellung und des Wassergehalts, sowie der kernspintomographischen Daten aus T1- und post-T1-Wichtung und der diffusionswichtenden Messungen mit Bestimmung der apparenten Diffusionskoeffizienten.

Obwohl NOS-Inhibitoren ihren protektiven Effekt nach Ischämie und zerebralem Trauma nur in einem engen Dosisbereich zeigen (Carreau *et al.*, 1994; Mesenge *et al.*, 1996), dürfte die Lubeluzol-Dosierung und Applikation in dieser Studie der kontrollierten, kortikalen Kontusion ursächlich nur wenig wahrscheinlich für den fehlenden Nachweis eines neuroprotektiven Effektes sein. Die Dosierung orientierte sich an der Arbeit von Ryck *et al.*, 1996, in der die Dosierungshöhe und Zeitverteilung der Lubeluzol-Gabe in dem photochemischen Infarktmodell anhand einer Skala zur Beurteilung der kontralateralen taktilen und propriozeptiven Stellreaktion der Hinterpfote ermittelt wurde.

Basierend auf diesen Ergebnissen, muß die in der vorliegenden Traumastudie applizierte Dosisverteilung von 0.8 mg Lubeluzol pro kg Körpergewicht, jeweils appliziert nach 15

und 75 Minuten nach Trauma als suffizient betrachtet werden. Ungünstige Nebeneffekte können einen potentiell neuroprotektiven Effekt überdecken (Lu *et al.*, 1997; Thomale *et al.*, 1997). Temperatur, Glucose-Konzentration, Blutdruck, Hämoglobinkonzentration und Blutgasparameter wurden in der Studie von Kroppenstedt *et al.*, 1999 jedoch engmaschig überwacht und zeigten keine Auffälligkeiten, bzw. Unterschiede zwischen Lubeluzol und Plazebo-Tieren. Insbesondere zeigte die potentiell auftretende, von Grand *et al.*, 2000 und Hacke *et al.*, 1998 wiederholt unter Lubeluzol-Applikation im EKG gesehene QT-Zeit-Verlängerung mit kardialen Arrhythmien in der kontinuierlichen MABP-Messung keine hämodynamische Relevanz.

Mutmaßlich aber ist es die mehrdeutige Rolle des Stickstoffmonoxids selbst, die, im Gegensatz zur Ischämie, aufgrund einer unterschiedlichen, pathophysiologischen Situation das Ausbleiben eines neuroprotektiven Effekts beim kortikalen Trauma bedingt hat. Denn in der Rolle des Jekyll und Hyde<sup>9</sup> führt die Aktivierung der NO-Synthese und der Expressionssteigerung der NOS kodierenden Gene zu z. T. gegenläufigen Ergebnissen. Zu dem zytotoxischen Charakter zählt der oxidative Schaden des NO, das als Radikal mit einem Superoxid-Anion zu dem hochreaktiven, zytotoxischen Peroxynitrit reagiert. Dieses um so mehr, wenn die enzymatischen Co-Faktoren oder das L-Arginin als Reaktionsedukt (siehe Abbildung 4.19) selbst in einer zu geringen, also Reaktionsraten-limitierenden Konzentration vorliegen, sodaß der Elektronentransfer von der NO-Produktion entkoppelt abläuft, was über die direkte Bildung von Superoxid-Anionen und NO zur Bildung von Peroxynitrit führt.

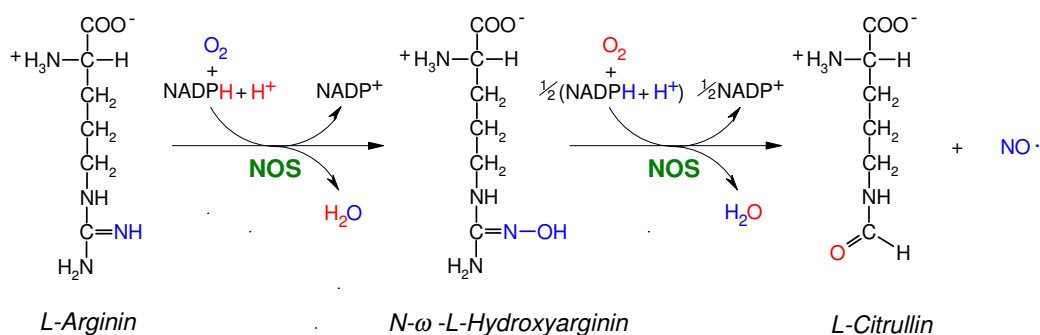


Abbildung 4.19: Gemeinsamer Mechanismus der NO-Synthasen (nNOS, iNOS, eNOS). L-Arginin wird mit NADPH als Elektronendonator zu N-ω-Hydroxyarginin als Zwischenprodukt umgesetzt, in einem zweiten Schritt zu N-Citrullin. Nicht dargestellt sind die weiteren Co-Faktoren Flavinadenindinucleotid (FAD), Flavinmononucleotid (FMN) und Tetrahydrobiopterin (THB), sowie Häm als prosthetische Gruppe. Fehlt Calmodulin als NOS-Aktivator, wird der Elektronentransfer auf das Cytochrom C umgelenkt.

NO, bzw. dessen Radikalderivate führen im weiteren zur energetischen Erschöpfung, Störungen des Eisenmetabolismus, bedingen DNA-Schäden und behindern die DNA-Reparaturvorgänge und triggern letztlich den programmierten Zelltod. Die hier aufgeführ-

<sup>9</sup> Die Erzählung "Der seltsame Fall des Doctor Jekyll und des Herrn Hyde" von Robert Louis Stevenson beschreibt im alten London den Selbstversuch des Dr. Henry Jekyll, der durch die Einnahme eines Elixiers versuchte, das Gute vom Bösen im Menschen zu trennen. Das Experiment gelang, jedoch konnte der ehrbare Doktor die Verwandlung in sein böses Ich nicht mehr kontrollieren. Als hemmungsloser, gemeiner Edward Hyde verbreitete er Angst und Schrecken.

ten Reaktionen hängen eng von dem lokalen Redox-Potential der Zelle ab. Bei entsprechend günstigen Bedingungen kann es aber zur Bildung von  $\text{NO}^+$  kommen, was zytoprotektiv wirkt. Ebenfalls zytoprotektiv wirkt die NO-vermittelte Vasodilatation durch die Verbesserung des postischämischen Blutflusses, insbesondere in den Kollateralen und die Inhibierung der Thrombozyten- und Leukozytenadhäsion mit Vermeidung von Sludge-Bildung. Desweiteren wird eine Hemmung des NMDA-vermittelten  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstroms beschrieben. Zunehmend unübersichtlich werden die Verhältnisse durch die Existenz dreier Isoformen der NOS mit unterschiedlicher zellulärer Verteilung. Die neuronale (nNOS, Typ I) ist zusammen mit der endothelialen (eNOS, Typ III) Isoform konstitutiv exprimiert, und wird nur durch erhöhte intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegel Calmodulin-vermittelt aktiviert. Die iNOS-Isoform (Typ II) wird durch immunologische Stimuli z. B. in Makrophagen exprimiert und ist dann kontinuierlich und  $\text{Ca}^{2+}$ -unabhängig aktiviert, so daß NO in großen, zytotoxischen Mengen generiert wird. Ischämie-Studien beschreiben eine innerhalb von 10 Minuten beginnende nNOS-Aktivierung, die bis zu 60 Minuten anhält und mit zunehmenden Neuronenuntergang nach 24 Stunden drastisch abfällt. Ebenfalls in der frühen ischämischen Phase steigt die eNOS-Aktivität, während die iNOS-Expression erst nach 6 - 12 Stunden beginnt (Iadecola *et al.*, 1994; Iadecola, 1997).

Möglicherweise ist die Modulation des NO-Synthase-Pathways durch Lubeluzol im Modell der fokalen, zerebralen Ischämie deutlich verschieden von der Situation im zerebralen Trauma mit der Kontusion als wesentliches pathophysiologisches Korrelat. Allerdings zeigen sich auch beim Einsatz von NOS-Inhibitoren im identischen Ischämie-Modellen z. T. kontroverse Ergebnisse (Choi, 1993; Dawson, 1994 und Iadecola *et al.*, 1994).

Dieses gilt auch für die Untersuchungen von NO-Synthase-Inhibitoren in einer Reihe von Traumastudien, die jedoch aufgrund ihres z. T. unterschiedlichen Designs nur eingeschränkt vergleichbar sind. Mesenge *et al.*, 1996 fanden in einem therapeutischen Fenster kleiner als zwei Stunden durch L-NAME und 7-NI ein dosisabhängig verbessertes 'outcome' im Modell des moderaten, geschlossenen SHT an Mäusen. Wallis *et al.*, 1996 zeigten einen protektiven Effekt auf CA1-Hippocampus-Zellen nach 'fluid percussion'-Trauma. Lu *et al.*, 1997 fanden eine z. T. erhöhte Morbidität, die allerdings möglicherweise auf kardiovaskuläre Begleitreaktionen des L-NAME zurückzuführen waren. Im Modell der CCII konnten Lee *et al.*, 1997 nach L-Arginin-Gabe, dem Precursor der NO-Synthese, einen erhöhten zerebralen Blutfluß innerhalb des Kontusionkerns mit einer Abnahme der Kontusionsgröße korrelieren. Insofern könnte die NO-Synthase-Pathway-Modulation mittels Lubeluzol den früh einsetzenden, vasodilatierenden eNOS vermittelten Effekt nivelliert haben. Inwieweit eventuell der Lubeluzol-Effekt über die, jedoch z. T. sehr niederaffine Interaktion mit den  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanal bzw.  $5\text{-HT}_{1A}$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  oder Histamin  $\text{H}_1$ -Rezeptor vermittelt ist, bleibt an dieser Stelle spekulativ. Interessant sind die neueren Ergebnisse von Maiese *et al.*, 1997 und Maiese & Vincent, 2000, wonach an Zellkulturen eine NO-vermittelte Induktion des programmierten Zelltodes durch die Applikation von Lubeluzol innerhalb eines bestimmten Zeitfensters aufgehalten werden kann, und insbesondere die Vorstufen des programmierten Zelltodes wie der Verlust der Zellmembranasymmetrie wieder reversibel sind. Für die weitere Untersuchung hinsichtlich der Wirksamkeit von Lubeluzol wäre die weitere Entschlüsselung der detaillierten, molekularen Wechselwirkung mit dem NO-Synthase-Weg von großem Interesse.



# Kapitel 5

## Zusammenfassung und Ausblick

Das schwere Schädel-Hirn-Trauma als häufige Ursache für Tod oder schwere Behinderung gerade junger Menschen stellt trotz der zunehmenden Verbesserung des 'outcome' in den letzten Jahrzehnten noch immer eine enorme neurochirurgische und intensivmedizinische Herausforderung mit häufig unbefriedigendem Resultat dar. Die komplexen Kaskaden an pathophysiologischen und pathobiochemischen Reaktionen im Rahmen des Sekundärschadens sind die wesentlichen Faktoren, deren Aufklärung von Interesse sind, um Ansatzpunkte für neuroprotektive Therapiestrategien aufzudecken. Die komplexen Kaskaden machen tierexperimentelle Studien, gerade auch für die Evaluation neuer neuroprotektiver Substanzen, unverzichtbar. In diesem Zusammenhang gewinnen die kernspintomographischen Untersuchungstechniken zunehmend an Bedeutung, nicht nur aufgrund der nichtinvasiven Untersuchungstechnik, sondern auch durch die zahlreichen Informationen, die sich aus T2-, T1-, diffusions- und perfusionswichtender Bildgebung, Protonen- und Phosphor-Spektroskopie, Relaxivitätsmessungen, funktionellen (fMRI) Untersuchungen und angiographischen Techniken ergeben und die direkt oder indirekt die pathophysiologischen und pathobiochemischen Verhältnisse zu erhellen vermögen. Aus der Nichtinvasivität ergibt sich gleichzeitig die Möglichkeit der intraindividuellen Vergleichsmessung, die Zeitverlaufsuntersuchungen möglich macht.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen wurden an Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt, bei denen mit dem 'controlled cortical impact injury'-Modell eine subletale, parietotemporale Hirnkontusion induziert wurde.

In der anschließenden kernspintomographischen Verlaufsuntersuchung wurden die Tiere über einen Zeitraum bis zu 7 Tagen untersucht. In den 90 Minuten, 6, 24 und 48 Stunden, sowie 7 Tage nach Trauma durchgeführten Messungen wurden jeweils T2-, T1-, post-Kontrast-T1- und diffusionsgewichtete Sequenzen eingesetzt. Anhand der T2-gewichteten Sequenz konnte eine Progression des posttraumatischen Hirnödems mit einer maximalen Ausdehnung im Zeitraum von 24 - 48 Stunden nach Trauma erfaßt werden. Nach 7 Tagen wurde eine verflüssigte, liquorintense Nekrosezone nachgewiesen. T1-gewichtete Aufnahmen sind sensitiv gegenüber zeitabhängigen Änderungen der dia- und paramagnetischen Eigenschaften von Blutungen sowie Blut-Hirnschrankenstörungen. Daher sind sie zur Detektion von Hämorrhagien und Hämatomen geeignet. In den unmittelbar posttraumatischen Messungen wurden akute subdurale und subarachnoidale Hämatomanteile gefunden. Das bereits frühzeitig hyperintense Signal dieser Blutungsareale wurde als Folge einer unmittelbaren, traumatisch bedingten Zelllyse mit einhergehender Methämoglobin-

bildung interpretiert, was durch Relaxivitätsmessungen unterschiedlich alter Blutungsareale zu bestätigen wäre. In den post-KM-T1-gewichteten Aufnahmen stellte sich durch die Kontrastmittelextravasation eine bereits frühzeitig aufgetretene und im Zeitverlauf bis 24 Stunden zunehmende Blut-Hirn-Schrankenstörung dar. Dieses steht im Gegensatz zu anderen Arbeiten, die anhand von Evans-Blue als Marker der Blut-Hirn-Schrankenstörung im CCII-Modell einen biphasischen Schrankenschaden fanden oder zu kernspintomographischen Studien, in denen in einem Schlag-Akzelerations-Modell eine nur passagere und kurzzeitige Öffnung der Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen wurde.

In zahlreichen Studien bei der zerebralen Ischämie wurden diffusionswichtige Messungen mit der Fragestellung der Ausbildung zytotoxischer Ödemareale eingesetzt, basierend auf der Vorstellung, daß sich Restriktionen der freien, molekularen Wasserbewegung unmittelbar anhand eines verringerten apparenten Diffusionskoeffizienten widerspiegeln. Für die Implementierung einer diffusionswichtigen Sequenz wurden daher eine Reihe von Voruntersuchungen notwendig, um die ADC-Werte präzise zu bestimmen. Diese Untersuchungen umfaßten Messungen von Lösungsmitteln mit bekannten Diffusionskoeffizienten, Messungen zur Temperaturabhängigkeit der DWI-Sequenz und Vergleichsmessungen in dem Modell der Okklusion der *Arteria cerebri media*. In diesem Zusammenhang wurden Softwareprogrammierungen notwendig, die neben der reinen Bildverarbeitung die korrigierte ADC-Berechnung unter Berücksichtigung von 'cross-terms' ermöglichte. Die Ergebnisse nach CCII im 7-Tage-Verlauf ließen einen Kontusionskern von einem den Kern umgebenden Kontusionsrand unterscheiden. Während der Kontusionskern eine signifikante Reduktion der ADC-Werte zeigte, vereinbar mit der Ausbildung eines zytotoxischen Ödems, wies der Kontusionsrand eine deutliche ADC-Erhöhung infolge eines vasogenen Ödems auf, bedingt durch die Blut-Hirn-Schrankenstörung. Nach 7 Tagen ließ sich mittels ADC-Bildgebung, und anhand der T2-Bildgebung der Übergang in eine verflüssigte Nekrosezone nachweisen.

Der in zahlreichen tierexperimentellen Studien zur zerebralen Ischämie als neuroprotektiv wirksame NO-Synthase-Pathway-Modulator Lubeluzol wurde auf seine Wirksamkeit beim CCII getestet. Es wurde die Ödemgröße mit einem sich über 24 Stunden erstreckenden MRT-Protokoll untersucht. Das Protokoll umfaßte T2-, T1-, post-KM-T1 und diffusionswichtige Sequenzen. Dabei wurde den Tieren posttraumatisch eine in den Infarktstudien als wirksam gefundene Dosierung appliziert. Die MRT-Untersuchungen konnten, ebenso wenig wie die Untersuchungen von Kroppenstedt *et al.*, 1999, weder einen neuroprotektiven Effekt noch die Reduktion der Ödemausdehnung zugunsten von Lubeluzol feststellen. Auch in den apparenten Diffusionskoeffizienten konnten keine signifikanten Änderungen zwischen Placebo und Verum gefunden werden.

Kernspintomographische Untersuchungen bieten somit in Hinblick auf die Klärung der Pathophysiologie einer traumatischen Hirnschädigung ein breites Spektrum an Möglichkeiten. Für weitere Untersuchungen stellt die Perfusionsbildgebung für die lokoregionale Durchblutung eine interessante Methodik dar. Desweiteren soll u. a. mit Hilfe der Protonen- und Phosphat-Spektroskopie unter gleichzeitigem Einsatz von Mikrodialyse-Techniken versucht werden, einen tieferen Einblick in den zerebralen Metabolismus und in den Energiestoffwechsel zu erhalten, in der Hoffnung, weitere Ansatzpunkte für potentiell neuroprotektive Therapien aufzeigen zu können, die letztlich das 'outcome' Schädel-Hirn-Verletzter Patienten verbessern.



# Literatur

- (Abragam, 1961) Abragam, A. (1961). *The Principle of Nuclear Magnetism*. Oxford University Press, Oxford.
- (Albensi *et al.*, 2000) Albensi, B. C., Knoblach, S. M., Chew, B. G. M., O'Reilly, M. P., Faden, A. I. und Pekar, J. J. (2000). Diffusion and High Resolution MRI of Traumatic Brain Injury in Rats: Time Course and Correlation with Histology. *Experimental Neurology*, **162**:61–72.
- (Alsop *et al.*, 1996) Alsop, D. C., Murai, H., Detre, J. A., McIntosh, T. K. und Smith, D. H. (1996). Detection of Acute Pathologic Changes Following Experimental Traumatic Brain Injury Using Diffusion-weighted Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Neurotrauma*, **13**:515–521.
- (Andrussow, 1969) Andrussow, L. (1969). Bd. 2, Eigenschaften der Materie in ihren Aggregatzuständen. Teil 5, Bestandteil a. Transportphänomene. 1 Viskosität und Diffusion. In *Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik* (K. Schäfer, Hrsg.), S. 581–592. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 6. Auflage.
- (Aronowski *et al.*, 1996) Aronowski, J., Strong, R. und Grotta, J. C. (1996). Combined Neuroprotection and Reperfusion Therapy for Stroke. Effect of Lubeluzole and Diaspirin Cross-linked Hemoglobin in Experimental Focal Ischemia. *Stroke*, **27**:1571–1576; Diskussion 1576–1577.
- (Assaf *et al.*, 1997) Assaf, Y., Beit-Yannai, E., Shohami, E., Berman, E. und Cohen, Y. (1997). Diffusion- and T2-weighted MRI of Closed-Head Injury in Rats: A Time Course Study and Correlation with Histology. *Magnetic Resonance Imaging*, **15**:77–85.
- (Assaf *et al.*, 1999) Assaf, Y., Holokovsky, A., Berman, E., Shapira, Y., Shohami, E. und Cohen, Y. (1999). Diffusion and Perfusion Magnetic Resonance Imaging Following Closed Head Injury in Rats. *Journal of Neurotrauma*, **16**:1165–1176.
- (Astrup *et al.*, 1981) Astrup, J., Siesjo, B. K. und Symon, L. (1981). Thresholds in Cerebral Ischemia - the Ischemic Penumbra. *Stroke*, **12**:723–725.
- (Baird & Warach, 1998) Baird, A. E. und Warach, S. (1998). Magnetic Resonance Imaging of Acute Stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **18**:583–609.
- (Baldwin *et al.*, 1996) Baldwin, S. A., Fugaccia, I., Brown, D. R., Brown, L. V. und Scheff, S. W. (1996). Blood Brain Barrier Breach Following Cortical Contusion in the Rat. *Journal of Neurosurgery*, **85**:476–481.

- (Barzo *et al.*, 1997) Barzo, P., Marmarou, A., Fatouros, P., Corwin, F. und Dunbar, J. G. (1997). Acute Blood-Brain Barrier Changes in Experimental Closed Head Injury as Measured by MRI and Gd-DTPA. *Acta Neurochirurgica (Suppl.)*, **70**:243–246.
- (Baskaya *et al.*, 1997) Baskaya, M. K., Rao, A. M., Bogan, A., Donaldson, D. und Dempsey, R. J. (1997). The Biphasic Opening of the Blood-Brain Barrier in the Cortex and Hippocampus after Traumatic Brain Injury in Rats. *Neuroscience Letters*, **226**:33–36.
- (Beaumont & Marmarou, 1998) Beaumont, A. und Marmarou, A. (1998). The Effect of Human Corticotrophin Releasing Factor on the Formation of Post-Traumatic Cerebral Edema. *Acta Neurochirurgica Suppl.*, **71**:149–152.
- (Bederson *et al.*, 1985) Bederson, J. B., Pitts, L. H., Tsuji, M., Nishimura, M. C., Davis, R. L. und Bartkowski, H. (1985). Rat Middle Cerebral Artery Occlusion: Evaluation of the Model and Development of a Neurologic Examination. *Stroke*, **17**:472–476.
- (Benfield *et al.*, 1997) Benfield, A., Griswold, M., Jakob, P., Edelman, R. R. und Warach, S. (1997). Optimization of Diffusion weighted imaging: a theoretical approach to sequence programming. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. Fifth Scientific Meeting and Exhibition*, S. 1417, Vancouver, Canada. ISMRM.
- (Benveniste *et al.*, 1992) Benveniste, H., Hedlund, L. W. und Johnson, G. A. (1992). Mechanism of Detection of Acute Cerebral Ischemia in Rats by Diffusion-weighted Magnetic Resonance Microscopy. *Stroke*, **23**:746–754.
- (Bernarding *et al.*, 1999) Bernarding, J., Braun, J., Koennecke, C., Hohmann, J., Wolf, K. J. und Tolxdorff, T. (1999). Monitoring und Gewebecharakterisierung humaner Hirninfarkte mittels multimodaler Kernspintomographie einschließlich Diffusions- und Perfusionbildgebung. In *Bildverarbeitung für die Medizin 1999, Algorithmen - Systeme - Anwendungen* (H. Evers, G. Glombitza, T. L. und Meinzer, H. P., Hrsg.), S. 97–101. 1999.
- (Bo-Young *et al.*, 1995) Bo-Young, C., Tae-Suk, S., Kyu-Ho, C., Kyung-Sub, S., Chun-Kun, P. und Joon-Ki, K. (1995). Neuronal Dysfunction in Patients with Closed Head Injury Evaluated by in Vivo  $^1\text{H}$  Magnetic Resonance Spectroscopy. *Investigative Radiology*, **30**:502–506.
- (Born, 1994) Born, G. (1994). *Programmierhandbuch Dateiformate*, 2. Auflage. Addison-Wesley, Bonn, Paris, Reading, Mass. u.a.
- (Bottomley *et al.*, 1984) Bottomley, P. A., Foster, T. H., Argersinger, R. E. und Pfeifer, L. M. (1984). A Review of Normal Tissue Hydrogen NMR Relaxation Times and Relaxation Mechanisms from 1-100 MHz: Dependence on Tissue Type, NMR Frequency, Temperature, Species, Excision, and Age. *Medical Physics*, **11**:425–448.
- (Bronstein & Semendjajew, 1985) Bronstein, I. N. und Semendjajew, K. A. (1985). *Taschenbuch der Mathematik*, 22. Auflage. BSB B.G. Teubner Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- (Bryan *et al.*, 1995) Bryan, Jr., R. M., Cherian, L. und Robertson, C. (1995). Regional Cerebral Blood Flow after Controlled Cortical Impact Injury in Rats. *Anesthesia and Analgesia*, **80**:687–695.

- (Buchkremer-Ratzmann & Witte, 1997) Buchkremer-Ratzmann, I. und Witte, O. W. (1997). Pharmacological Reduction of Electrophysiological Diaschisis after Photothrombotic Ischemia in Rat Neocortex. *European Journal of Pharmacology*, **320**:103–109.
- (Bullock *et al.*, 1996) Bullock, R., Chesnut, R., Clifton, G., Ghajar, J., Marion, D., Narayan, R., Newell, D., Pitts, L., Rosner, M. und Wilberger, J. (1996). Guidelines for the Management of Severe Head Injury. Brain Trauma Foundation. *European Journal of Emergency Medicine*, **3**:109–127.
- (Bullock, 1993) Bullock, R. (1993). Opportunities for Neuroprotective Drugs in Clinical Management of Head Injury. *Journal of Emergency Medicine*, **11**:23–30.
- (Bulte *et al.*, 1993) Bulte, J. W. M., de Jonge, M. W. A., Kamman, R. L., Zuiderveen, F., The, T. H., de Leij, L. und Go, K. G. (1993). Magnetite as a Potent Contrast-Enhancing Agent in Magnetic Resonance Imaging to Visualize Blood-Brain-Barrier Disruption. *Acta Neurochirurgica Suppl.*, **57**:30–34.
- (Buxton *et al.*, 1996) Buxton, R. B., Frank, L. R. und Prasad, P. V. (1996). Principles of Diffusion and Perfusion MRI. In *Clinical Magnetic Resonance* (Edelman, R. R., Hesselink, J. R. und Zlatkin, M. B., Hrsg.). Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.
- (Carreau *et al.*, 1994) Carreau, A., Duval, D., Poignet, H., Scatton, B., Vige, X. und Nowicki, J. P. (1994). Neuroprotective Efficacy of N- $\omega$ -Nitro-L-Arginine after Focal Cerebral Ischemia in the Mouse and Inhibition of Cortical Nitric Oxide Synthase. *European Journal of Pharmacology*, **256**:241–249.
- (Chesnut *et al.*, 1993) Chesnut, R. M., Marshall, L. F., Klauber, M. R., Blunt, B. A., Baldwin, N., Eisenberg, H. M., Jane, J. A., Marmarou, A. und Foulkes, M. A. (1993). The Role of Secondary Brain Injury in Determining Outcome from Severe Head Injury. *Journal of Trauma*, **34**:216–222.
- (Choi, 1993) Choi, D. W. (1993). Nitric Oxide: Ffoe or Friend to the Injured Brain? *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **90**:9741–9743.
- (Dawson *et al.*, 1991) Dawson, T. M., Bredt, D. S., Fotuhi, M., Hwang, P. M. und Snyder, S. H. (1991). Nitric Oxide Synthase and Neuronal NADPH Diaphorase are Identical in Brain and Peripheral Tissues. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **88**:7797–7801.
- (Dawson, 1994) Dawson, D. A. (1994). Nitric Oxide and Focal Cerebral Ischemia: Multiplicity of Actions and Diverse Outcome. *Cerebrovascular and Brain Metabolism Reviews*, **6**:299–324.
- (de Groot, 1959) de Groot, J. (1959). The Rat Forebrain in Stereotaxic Coordinates. *Verh. K. Ned. Akad. Wet.*, **2**:1–40.
- (Denny-Brown & Russell, 1941) Denny-Brown, D. und Russell, W. R. (1941). Experimental Cerebral Concussion. *Brain*, **64**:93.
- (Denny-Brown, 1945) Denny-Brown, D. (1945). Cerebral Contusion. *Physiological Reviews*, **25**:296.

- (Diener *et al.*, 1996) Diener, H. C., Hacke, W., Hennerici, M., Radberg, J., Hantson, L. und Keyser, J. D. (1996). Lubeluzole in Acute Ischemic Stroke. A Double-Blind, Placebo-Controlled Phase II Trial. Lubeluzole International Study Group. *Stroke*, **27**:76–81.
- (Diener, 1998) Diener, H. C. (1998). Multinational Randomised Controlled Trial of Lubeluzole in Acute Ischaemic Stroke. European and Australian Lubeluzole Ischaemic Stroke Study Group. *Cerebrovascular Disorders*, **8**:172–181.
- (Dixon *et al.*, 1991) Dixon, C. E., Clifton, G. L., Lighthall, J. W., Yaghmai, A. A. und Hayes, R. L. (1991). A Controlled Cortical Impact Model of Traumatic Brain Injury in the Rat. *Journal of Neuroscience Methods*, **39**:253–262.
- (Edelman *et al.*, 1996) Edelman, R. R., Hesselink, J. R. und Zlatkin, M. B. (1996). *Clinical Magnetic Resonance*, 2<sup>nd</sup> Edition. W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.
- (Enzmann *et al.*, 1981) Enzmann, D. R., Britt, R. H., Lyons, B. E., Buxton, J. L. und Wilson, D. A. (1981). Natural History of Experimental Intracerebral Hemorrhage: Sonography, Computed Tomography and Neuropathology. *American Journal of Neuroradiology*, **2**(6):517–526.
- (Erhardt *et al.*, 1992) Erhardt, W., Henke, J., Brill, T. und Bernatzky, G. (1992). *Methoden zur Anästhesie und Schmerzlinderung beim Tier*. Fischer, München, Salzburg.
- (Feeney *et al.*, 1981) Feeney, D. M., Boyeson, M. G., Linn, R. T., Murray, H. M. und Dail, W. G. (1981). Responses to Cortical Injury: I. Methodology and Local Effects of Contusions in the Rat. *Brain Research*, **211**:67–77.
- (Foda & Marmarou, 1994) Foda, M. A. und Marmarou, A. (1994). A New Model of Diffuse Brain Injury in Rats. Part II: Morphological Characterization. *Journal of Neurosurgery*, **80**:301–313.
- (Foster *et al.*, 1987) Foster, A. C., Gill, R., Kemp, J. A. und Woodruff, G. N. (1987). Systemic Administration of MK-801 Prevents N-Methyl-D-Aspartate-Induced Neuronal Degeneration in Rat Brain. *Neuroscience Letters*, **76**:307–311.
- (Foulkes *et al.*, 1991) Foulkes, M. A., Eisenberg, H. M., Jane, J. A., Marmarou, A., Marshall, L. F. und Traumatic Coma Data Bank Research Group, . (1991). The Traumatic Coma Data Bank: Design, Methods, and Baseline Characteristics. *Journal of Neurosurgery*, **75**:S8–S13.
- (Frankowski *et al.*, 1985) Frankowski, R. F., Annegers, J. F. und Whitman, S. (1985). Epidemiological and Descriptive Studies. 1. The Descriptive Epidemiology of Head Trauma in the United States. In *Central Nervous System Status Report* (Becker, D. P. und Polishock, J., Hrsg.), S. 33–51. National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke, National Institute of Health: Bethesda.
- (Gennarelli, 1994) Gennarelli, T. A. (1994). Animate Models of Human Head Injury. *Journal of Neurotrauma*, **11**:357–368.
- (Gentry, 1994) Gentry, L. R. (1994). Imaging of Closed Head Injury. *Radiology*, **191**:1–17.

- (Gordon *et al.*, 1995) Gordon, E., von Holst, H. und Rudehill, A. (1995). Outcome of Head Injury in 2298 Patients Treated in a Single Clinic During a 21-Year Period. *Journal of Neurosurgery and Anesthesiology*, **7**:235–247.
- (Grand *et al.*, 2000) Grand, B. L., Dordain-Maffre, M. und John, G. W. (2000). Lubeluzole-Induced Prolongation of Cardiac Action Potential in Rabbit Purkinje Fibres. *Fundamenta Scientiae*, **14**:159–162.
- (Grotta, 1997a) Grotta, J. (1997a). Lubeluzole Treatment of Acute Ischemic Stroke. The US and Canadian Lubeluzole Ischemic Stroke Study Group. *Stroke*, **28**:2338–2346.
- (Grotta, 1997b) Grotta, J. C. (1997b). Treatment of Experimental Focal Ischemia in Rats with Lubeluzole. *Cerebrovascular Disorders*, **7**:31–34.
- (Grundl *et al.*, 1994) Grundl, P. D., Giagas, K. V., Kochanek, P. M., Schidling, J. K., Barmada, M. A. und Nemoto, E. M. (1994). Early Cerebrovascular Response to Head Injury in Immature and Mature Rats. *Journal of Neurotrauma*, **11**:135–148.
- (Hacke *et al.*, 1998) Hacke, W., Lees, K. R., Timmerhuis, T., Haan, J., Hantson, L., Hennerici, M. und Diener, H. C. (1998). Cardiovascular Safety of Lubeluzole (Prosynap®) in Patients with Ischemic Stroke. *Cerebrovascular Disorders*, **8**:247–254.
- (Hall, 1996) Hall, E. D. (1996). Injury Mechanisms and Therapies. In *Neurotrauma* (Narayan, R. K., J. E., J. W., Povlishock, J. T. und Wilberger, J. E., Hrsg.), Kapitel 104. McGraw Hill, New York, St. Louis, San Francisco u.a.
- (Hanstock *et al.*, 1994) Hanstock, C. C., Faden, A. I., Bendall, M. R. und Vink, R. (1994). Diffusion-Weighted Imaging Differentiates Ischemic Tissue From Traumatized Tissue. *Stroke*, **25**:843–848.
- (Hasegawa *et al.*, 1994) Hasegawa, Y., Latour, L. L., Sotak, C. H., Dardzinski, B. J. und Fisher, M. (1994). Temperature Dependent Change of Apparent Diffusion Coefficient of Water in Normal and Ischemic Brain of Rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **14**:383–390.
- (Hasegawa *et al.*, 1996) Hasegawa, Y., Formato, J. E., Latour, L. L., Gutierrez, J. A., Liu, K. F., Garcia, J. H., Sotak, C. H. und Fisher, M. (1996). Severe Transient Hypoglycemia Causes Reversible Change in the Apparent Diffusion Coefficient of Water. *Stroke*, **27**:1648–1655; Diskussion 1655–1656.
- (Haseldonckx *et al.*, 1997) Haseldonckx, M., Reempts, J. V., de Ven, M. V., Wouters, L. und Borgers, M. (1997). Protection with Lubeluzole Against Delayed Ischemic Brain Damage in Rats. A Quantitative Histopathologic Study. *Stroke*, **28**:428–432.
- (Hendrich *et al.*, 1999) Hendrich, K. S., Kochanek, P. M., Williams, D. S., Schiding, J. K., Marion, D. W. und Ho, C. (1999). Early Perfusion after Controlled Cortical Impact in Rats: Quantification by Arterial Spin-labeled MRI and the Influence of Spin-lattice Relaxation Time Heterogeneity. *Magnetic Resonance in Medicine*, **42**:673–681.
- (Hoehn-Berlage *et al.*, 1995) Hoehn-Berlage, M., Norris, D. G., Kohno, K., Mies, G., Leibfritz, D. und Hossmann, K. A. (1995). Evolution of Regional Changes in Apparent Diffusion Coefficient During Focal Ischemia of Rat Brain: the Relationship of Quantitative Diffusion NMR Imaging to Reduction in Cerebral Blood Flow and Metabolic Disturbances. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **15**:1002–1011.

- (Hoehn-Berlage, 1995) Hoehn-Berlage, M. (1995). Diffusion-weighted NMR Imaging: Application to Experimental Focal Cerebral Ischemia. *NMR in Biomedicine*, **8**:345–358.
- (Hossmann, 1994) Hossmann, K. A. (1994). Viability Thresholds and the Penumbra of Focal Ischemia. *Annals of Neurology*, **36**:557–565.
- (Iadecola *et al.*, 1994) Iadecola, C., Pelligrino, D. A., Moskowitz, M. A. und Lassen, N. A. (1994). Nitric Oxide Synthase Inhibition and Cerebrovascular Regulation. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **14**:175–192.
- (Iadecola, 1997) Iadecola, C. (1997). Bright and Dark Sides of Nitric Oxide in Ischemic Brain Injury. *Trends in Neuroscience*, **20**:132–139.
- (Ito *et al.*, 1996) Ito, J., Marmarou, A., Barzo, P., Fatouros, P. und Corwin, F. (1996). Characterization of Edema by Diffusion-Weighted Imaging in Experimental Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurosurgery*, **84**:97–103.
- (Jantzen, 1994) Jantzen, J.-P. (1994). Zerebrale Neuroprotektion und Ketamin. *Anaesthesist*, **43**:S41–S47.
- (Kermode *et al.*, 1990) Kermode, A. G., Tofts, P. S., Thompson, A. J., g. MacManus, D., Rudge, P., Kendall, B. E., Kingsley, D. P., Moseley, I. F., du Boulay, E. P. und McDonald, W. I. (1990). Heterogeneity of Blood-Brain Barrier Changes in Multiple Sclerosis: an MRI Study with Gadolinium-DTPA Enhancement. *Neurology*, **40**:229–235.
- (Kerningham & Ritchie, 1988) Kerningham, B. W. und Ritchie, D. M. (1988). *The C Programming Language*, 2<sup>nd</sup> Edition. Prentice Hall.
- (Kilgore *et al.*, 1987) Kilgore, D. P., Greger, R. K., Daniels, D. L., Pojunas, K. W., Williams, A. L. und Haughton, V. M. (1987). Cranial Tissues: Normal MR Appearance after Intravenous Injection of Gd-DTPA. *Radiology*, **160**:757–761.
- (Klatzo, 1967) Klatzo, I. (1967). Presidential Address. Neuropathological Aspects of Brain Edema. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, **26**:1–14.
- (Klatzo, 1985) Klatzo, I. (1985). Brain Oedema Following Brain Ischemia and Influence of Therapy. *British Journal of Anaesthesiology*, **57**:18–22.
- (Kochanek *et al.*, 1995) Kochanek, P. M., Marion, D. W., Zhang, W., Schiding, J. K., White, M., Palmer, A. M., Clark, R. S., ME, O. M., Styren, S. D., Ho, C. und DeKosky, S. T. (1995). Severe Controlled Cortical Impact in Rats: Assessment of Cerebral Edema, Blood Flow, and Contusion Volume. *Journal of Neurotrauma*, **12**:1015–1025.
- (Kroppenstedt *et al.*, 1998) Kroppenstedt, S. N., Schneider, G. H., Thomale, U. W. und Unterberg, A. W. (1998). Protective Effects of Aptiganel HCl (Cerestat) Following Controlled Cortical Impact Injury in the Rat. *Journal of Neurotrauma*, **15**:191–197.
- (Kroppenstedt *et al.*, 1999) Kroppenstedt, S. N., Stroop, R., Kern, M., Thomale, U. W., Schneider, G. H. und Unterberg, A. W. Juli 1999. Lubeluzole Following Traumatic Brain Injury in the Rat. *Journal of Neurotrauma*, **16**:629–637.
- (Kushi *et al.*, 1994) Kushi, H., Katayama, Y., Shibuya, T., Tsubokawa, T. und Kuroha, T. (1994). Gadolinium DTPA-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Cerebral Contusions. *Acta Neurochirurgica*, **60**:472–474.

- (Lang *et al.*, 1991) Lang, D. A., Hadley, D. M., Teasdale, G. M., Macpherson, P. und Teasdale, E. (1991). Gadolinium DTPA Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Acute Head Injury. *Acta Neurochirurgica*, **109**:5–11.
- (Le Bihan & Turner, 1986) Le Bihan, D. und Turner, R. (1986). Diffusion and Perfusion. In *Magnetic Resonance Imaging* (Stark, D. D. und Bradley, W. G., Hrsg.). Raven Press, Ltd., New York.
- (Lee *et al.*, 1997) Lee, S. M., Kozlowski, D. A., von Stuck, S. L. und Hovda, D. A. (1997). Increasing Cerebral Blood Flow with L-Arginine Reduces Injury-induced Cortical Contusion Volume. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **17** (Suppl):S 592.
- (Lesage *et al.*, 1996) Lesage, A. S., Peeters, L. und Leysen, J. E. (1996). Lubeluzole, a Novel Long-Term Neuroprotectant, Inhibits the Glutamate-activated Nitric Oxide Synthase Pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **279**:759–766.
- (Lighthall *et al.*, 1989) Lighthall, J. W., Dixon, C. E. und Anderson, T. E. (1989). Experimental Models of Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, **6**:83–97.
- (Lindgren & Rinder, 1965) Lindgren, S. und Rinder, L. (1965). Experimental Studies of Head Injury I. Some Factors Influencing Results of Model Experiments. *Biophysik*, **2**:320–329.
- (Loubinoux *et al.*, 1997) Loubinoux, I., Volk, A., Borredon, J., Guirimand, S., Tiffon, B., Seylaz, J. und Meric, P. (1997). Spreading of Vasogenic Edema and Cytotoxic Edema Assessed by Quantitative Diffusion and T2 Magnetic Resonance Imaging. *Stroke*, **28**:419–426; Diskussion 426–427.
- (Lu *et al.*, 1997) Lu, Y. C., Liu, S., Gong, Q. Z., Hamm, R. J. und Lyeth, B. G. (1997). Inhibition of Nitric Oxide Synthase Potentiates Hypertension and Increases Mortality in Traumatically Brain-injured Rats. *Molecular and Chemical Neuropathology*, **30**:125–137.
- (Maiese & Vincent, 2000) Maiese, K. und Vincent, A. M. (2000). Critical Temporal Modulation of Neuronal Programmed Cell Injury. *Cell*, **20**:383–400.
- (Maiese *et al.*, 1997) Maiese, K., TenBroeke, M. und Kue, I. (1997). Neuroprotection of Lubeluzole is Mediated Through the Signal Transduction Pathways of Nitric Oxide. *Journal of Neurochemistry*, **68**:710–714.
- (Marmarou *et al.*, 1994) Marmarou, A., Foda, M. A., van den Brink, W., Campbell, J., Kita, H. und Demetriadou, K. (1994). A New Model of Diffuse Brain Injury in Rats. Part I: Pathophysiology and Biomechanics. *Journal of Neurosurgery*, **80**:291–300.
- (Marrannes *et al.*, 1998) Marrannes, R., Prins, E. D. und Clincke, G. (1998). Influence of Lubeluzole on Voltage-Sensitive  $\text{Ca}^{++}$  Channels in Isolated Rat Neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **286**:201–214.
- (Matsuoka & Hossmann, 1982) Matsuoka, Y. und Hossmann, K. A. (1982). Cortical Impedance and Extracellular Volume Changes Following Middle Cerebral Artery Occlusion in Cats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **2**:466–474.

- (McIntosh *et al.*, 1987) McIntosh, T. K., Faden, A. I., Bendall, M. R. und Vink, R. (1987). Traumatic Brain Injury in the Rat: Alterations in Brain Lactate and pH as Characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance. *Journal of Neurochemistry*, **49**:1530–1540.
- (McIntosh *et al.*, 1996) McIntosh, T. K., Smith, D. H., Meaney, D. F., Kotapka, M. J., Gennarelli, T. A. und Graham, D. I. (1996). Neuropathological Sequelae of Traumatic Brain Injury: Relationship to Neurochemical and Biomechanical Mechanisms. *Laboratory Investigation*, **74**:315–342.
- (Memezawa *et al.*, 1992) Memezawa, H., Smith, M. L. und Siesjo, B. K. (1992). Penumbra Tissues Salvaged by Reperfusion Following Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats. *Stroke*, **23**:552–529.
- (Mesenge *et al.*, 1996) Mesenge, C., Verrecchia, C., Allix, M., Boulu, R. R. und Plotkine, M. (1996). Reduction of the Neurological Deficit in Mice with Traumatic Brain Injury by Nitric Oxide Synthase Inhibitors. *Journal of Neurotrauma*, **13**:209–214.
- (Mintorovitch *et al.*, 1991) Mintorovitch, J., Jang, G. Y., Shimizu, H., Kucharczyk, J., Chan, P. H. und Weinstein, P. R. (1991). Comparison of Diffusion- and T2-Weighted MRI for the Early Detection of Cerebral Ischemia and Reperfusion in Rats. *Magnetic Resonance in Medicine*, **18**:39–50.
- (Mitro & Palkovits, 1981) Mitro, A. und Palkovits, M. (1981). *Morphology of the Rat Brain Ventricles, Ependyma, and Periventricular Structures*. S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney.
- (Mori *et al.*, 1998) Mori, T., Katayama, T. K. Y., Maeda, T., Aoyama, N., Kikuchi, T. und Uwahodo, Y. (1998). Antioxidant, OPC-14117, attenuates edema formation, and subsequent tissue damage following cortical contusion in rats. *Acta Neurochirurgica Suppl.*, **71**:120–122.
- (Moseley *et al.*, 1990a) Moseley, M. E., Cohen, Y., Mintorovitch, J., Chileuitt, L., Shimizu, H., Kucharczyk, J., Wendland, M. F. und Weinstein, P. R. (1990a). Early Detection of Regional Cerebral Ischemia in Cats: Comparison of Diffusion- and T2-weighted MRI and Spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*, **14**:330–346.
- (Moseley *et al.*, 1990b) Moseley, M. E., Kucharczyk, J., Mintorovitch, J., Cohen, Y., Kurhanewicz, J., Derugin, N., Asgari, H. und Norman, D. (1990b). Diffusion-weighted MR Imaging of Acute Stroke: Correlation with T2-weighted and Magnetic Susceptibility-enhanced MR Imaging in Cats. *American Journal of Neuroradiology*, **11**:423–429.
- (Muramatsu *et al.*, 1996) Muramatsu, H., Katayama, Y., Kamiya, T., McKee, A. und Teraishi, A. (1996). Effect of Lubeluzole, a Novel Neuroprotective Agent, on Metabolism and PDH Activity in Ischemia. *Cerebrovascular Disorders*, **6**:49.
- (Murray *et al.*, 1999) Murray, G. D., Teasdale, G. M., Braakman, R., Cohadon, F., Dearden, M., Iannotti, F., Karimi, A., Lapierre, F., Maas, A., Ohman, J., Persson, L., Servadei, F., Stocchetti, N., Trojanowski, T. und Unterberg, A. (1999). The European Brain Injury Consortium Survey of Head Injuries. *Acta Neurochirurgica (Wien)*, **141**:223–236.
- (Neeman *et al.*, 1990) Neeman, M., Freyer, J. und Sillerud, L. (1990). Pulsed-gradient Spin-echo Diffusion Studies in NMR Imaging. Effects of the Imaging Gradients on



- the Determination of Diffusion Coefficients. *Journal of Magnetic Resonance*, **90**:303–312.
- (Neil *et al.*, 1996) Neil, J. J., Duong, T. Q. und Ackerman, J. J. (1996). Evaluation of Intracellular Diffusion in Normal and Globally-ischemic Rat Brain via  $^{133}\text{Cs}$  NMR. *Magnetic Resonance in Medicine*, **35**:329–335.
- (Nicholson, 1993) Nicholson, C. (1993). Diffusion of Ions and Micromolecules in the Brain. In *SMRM Workshop Book of Abstracts*, Berkley, CA. SMRM, Society of Magnetic Resonance in Medicine.
- (Niendorf *et al.*, 1993) Niendorf, T., Flögel, U., Norris, D. G. und Leibfritz, D. (1993). Intracellular Water Diffusion in Glioma and Neuroblastoma Cells. In *SMRM Workshop Book of Abstracts*, Berkley, CA. SMRM, Society of Magnetic Resonance in Medicine.
- (Osikowska-Evers *et al.*, 1995) Osikowska-Evers, B. A., Wilhelm, D., Nebel, U., Henne-mann, P., Scheufler, E. und Tegtmeier, F. (1995). The Effects of the Novel Neuropro-protective Compound Lubeluzole on Sodium Current and Veratridine-Induced Sodium Load in Rat Brain Neurons and Synaptosomes. *J. Cereb. Blood Flow Metabolism*, **15**:S380.
- (Pellegrino *et al.*, 1979) Pellegrino, L. J., Pellegrino, A. S. und Cushman, A. J. (1979). *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*, 2<sup>nd</sup> Edition. Plenum Press, New York, London.
- (Pierpaoli *et al.*, 1993) Pierpaoli, C., Righini, A., Linfante, I., Tao-Cheng, J. H., Alger, J. R. und Chiori, G. D. (1993). Histopathologic Correlates of Abnormal Water Diffusi-on in Cerebral Ischemia: Diffusion-weighted MR Imaging and Light and Electron Microscopy Study. *Radiology*, **189**:439–448.
- (Press *et al.*, 1992) Press, W. H., Teukolsky, S. A., Vetterling, W. T. und Flannery, B. P. (1992). *Numerical Recipes in C*, 2<sup>nd</sup> Edition. Cambridge University Press.
- (Pulsinelli, 1992) Pulsinelli, W. (1992). Pathophysiology of Acute Ischaemic Stroke. *Lancet*, **339**:533–536.
- (Reempts *et al.*, 1996) Reempts, J. V., Ashton, D., Willems, R., de Ven, M. V., Borgers, M. und Clincke, G. (1996). Lubeluzole Prevents Cellular Edema in Hippocampal Slices. In *10<sup>th</sup> International Brain Edema Symposium*, San Diego, USA.
- (Reiser & Semmler, 1992) Reiser, M. und Semmler, W. (1992). *Magnetresonanztomogra- phie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest.
- (Rothman & Olney, 1986) Rothman, S. M. und Olney, J. W. (1986). Glutamate and the Pathophysiology of Hypoxic–ischemic Brain Damage. *Annals of Neurology*, **19**:105–111.
- (Rubin *et al.*, 1997) Rubin, Y., Cecil, K., Wehrli, S., McIntosh, T. K., Lenkinski, R. E. und Smith, D. H. (1997). High-resolution  $^1\text{H}$  NMR Spectroscopy Following Experimental Brain Trauma. *Journal of Neurotrauma*, **14**:441–449.
- (Ryck *et al.*, 1996) Ryck, M. D., Keersmaekers, R., Duytschaever, H., Claes, C., Clincke, G., Janssen, M. und Reet, G. V. (1996). Lubeluzole Protects Sensorimotor Function and Reduces Infarct Size in a Photochemical Stroke Model in Rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*, **279**:748–758.

- (Ryck *et al.*, 2000) Ryck, M. D., Verhoye, M. und der Linden, A. V. (2000). Diffusion-weighted MRI of Infarct Growth in a Rat Photochemical Stroke Model: Effect of Lubeluzole. *Neuropharmacology*, **39**:691–702.
- (Scheller *et al.*, 2000) Scheller, D., Korte, M., Szathmary, S. und Tegtmeier, F. (2000). Cerebral Taurine Release Mechanisms in Vivo: Pharmacological Investigations in Rats Using Microdialysis for Proof of Principle. *Neurochemical Research*, **25**:801–807.
- (Shapira *et al.*, 1988) Shapira, Y., Shohami, E., Sidi, A., Soffer, D., Freeman, S. und Cotev, S. (1988). Experimental Closed Head Injury in Rats: Mechanical, Pathophysiologic, and Neurologic Properties. *Critical Care Medicine*, **16**:258–265.
- (Shapira *et al.*, 1992) Shapira, Y., Artru, A. A. und Lam, A. M. (1992). Ketamine Decreases Cerebral Infarct Volume and Improves Neurological Outcome Following Experimental Head Trauma in Rats. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, **4**:231–240.
- (Shapira *et al.*, 1993) Shapira, Y., Setton, D., Artru, A. A. und Shohami, E. (1993). Blood-brain Barrier Permeability, Cerebral Edema, and Neurologic Function after Closed Head Injury in Rats. *Anesthesia and Analgesia*, **77**:141–148.
- (Siesjö, 1992) Siesjö, B. K. (1992). Pathophysiology and Treatment of Focal Cerebral Ischemia. Part I: Pathophysiology. *Journal of Neurosurgery*, **77**:169–184.
- (Stark & Bradley, 1986) Stark, D. D. und Bradley, W. G. (1986). *Magnetic Resonance Imaging*, 2<sup>nd</sup> Edition. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Philadelphia, Sydney, Toronto.
- (Stejskal & Tanner, 1965) Stejskal, E. O. und Tanner, J. E. (1965). Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-dependent Field Gradient. *Journal of Chemical Physics*, **42**:288.
- (Stroop *et al.*, 1997) Stroop, R., Päuser, S., Vollmann, W., Bernarding, J., Kiening, K. L., Unterberg, A. W. und Wolf, K. J. (1997). Magnetresonanztomographische Charakterisierung des Hirnödems nach Controlled Cortical Impact Injury (CCII). *RöFo*, **166**:S136.
- (Stroop *et al.*, 1998) Stroop, R., Thomale, U. W., Päuser, S., Bernarding, J., Vollmann, W., Wolf, K. J., Lanksch, W. R. und Unterberg, A. W. (1998). Magnetic Resonance Imaging Studies with Cluster Algorithm for Characterization of Brain Edema after Controlled Cortical Impact Injury (CCII). *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)*, **71**:303–305.
- (Thomale *et al.*, 1997) Thomale, U.-W., Kiening, K. L., Schneider, G.-H. und Unterberg, A. W. (1997). Effect of 5-Hydroxytryptamine<sub>1A</sub> (5-HT<sub>1A</sub>) Agonist Bay X 3702 on Ischemic Lesion and Edema Following Controlled Cortical Impact Injury in Rats. *Zentralblatt für Neurochirurgie*, **Suppl 1997**:55.
- (Tofts, 1996) Tofts, P. S. (1996). Optimal Detection of Blood-Brain Barrier Defects with Gd-DTPA MRI - The Influence of Delayed Imaging and Optimised Repetition Time. *Magnetic Resonance Imaging*, **14**:373–380.
- (Tolxdorff, 1992) Tolxdorff, T. (1992). *Systemanalyse bei der Verarbeitung NMR-spektroskopischer Daten in der diagnostische Medizin und Realisierung des RWTH*

*Aachen Magnetic Resonance Software Systems RAMES*. Dissertation, RWTH Aachen, RWTH Aachen.

- (Unterberg *et al.*, 1997) Unterberg, A. W., Stroop, R., Thomale, U. W., Kiening, K. L., Pauser, S. und Vollmann, W. (1997). Characterisation of Brain Edema Following Controlled Cortical Impact Injury in Rats. *Acta Neurochirurgica Suppl. (Wien)*, **70**:106–8.
- (van Harrefeld *et al.*, 1965) van Harrefeld, A., Crowell, J. und Malhotra, S. K. (1965). A Study of Extracellular Space in Central Nervous Tissue by Freeze Substitution. *Journal of Cellular Biology*, **25**:117–137.
- (Wada *et al.*, 1996) Wada, K., Chatzipanteli, K., Busto, R. und Dietrich, W. D. (1996). Role of Nitric Oxide in Traumatic Brain Injury in the Rat. *Journal of Neurosurgery*, **98**:807–818.
- (Wallis *et al.*, 1996) Wallis, R. A., Panizzon, K. L. und Girard, J. M. (1996). Traumatic Neuroprotection with Inhibitors of Nitric Oxide and ADP Ribosylation. *Brain Research*, **710** (1-2):169–177.
- (Wilson *et al.*, 1993) Wilson, R. P., Zagon, I. S. und Lang, D. R. L. C. M. (1993). Cardiovascular and Respiratory Effects of Tiletamine-zolazepam. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, **44**:1–8.
- (Witkowski, 1877) Witkowski, L. (1877). Über Gehirnerschütterung. *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histopathology*, **69**:498.
- (Yamakami & McIntosh, 1989) Yamakami, I. und McIntosh, T. K. (1989). Effects of Traumatic Brain Injury on Regional Cerebral Blood Flow in Rats as Measured with Radiolabel Microspheres. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **9**:117–124.
- (Zijl *et al.*, 1991) Zijl, P. C. V., Moonen, C. T., Faustino, P., Pekar, J., Kaplan, O. und Cohen, J. S. (1991). Complete Separation of Intracellular and Extracellular Information in NMR Spectra of Perfused Cells by Diffusion-weighted Spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **88**:3228–3232.

# Anhang A

## Abkürzungsverzeichnis

### A.1 Abkürzungen

$^1\text{H}$	Wasserstoff 1-Isotop
2-D	2-Dimensional
7-NI	7-Nitroindazol
$^{13}\text{C}$	Kohlenstoff 13-Isotop
$^{31}\text{P}$	Phosphor 31-Isotop
Abb.	Abbildung
ADAKOS	Aspect Disk And Keyboard Operating System
ADC	Apparenter Diffusionskoeffizient
ADP	Adenosindiphosphat
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionat
ATP	Adenosintriphosphat
Ca	Calcium
CA1	Cornu Ammonis (Ammonshorn)
CCII	Controlled Cortical Impact Injury
CCT	Zerebrale Computertomographie
CPP	Zerebraler Perfusionsdruck
CT	Computertomographie
Cu	Kupfer
DIN	Deutsche Industrie Norm

div	Division
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTPA	Diethylen-triamin -pentaacetat
DWI	Diffusionsgewichtete Bildgebung
EB	Evans-Blue
EKG	Elektrokardiogramm
EPI	Echoplanar Imaging
Fa.	Firma
FAD	Flavinadenindinucleotid
FLASH	Fast Low Angle Shot Imaging
Fe	Eisen
FMN	Flavinmononucleotid
fMRI	Functional Magnetic Resonance Imaging
FOV	Field of View
Gd	Gadolinium
H <sub>1</sub> -Rezeptor	Histamin Klasse 1-Rezeptor
HCl	Chlorwasserstoff
HE	Hämatoxylin-Eosin
HF	Hochfrequenz
ICP	Intrakranieller Druck
IFD	Image File Directory
INN	Internationaler Non-Proprietary Name (Internationaler Freiname)
K	Kalium
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
L-NA	Nitro-L-Arginin
L-NAME	Nitro-L-Arginin-methyl-ester
LVDT	Linear Variable Differential Transformer
MABP	Mean Arterial Blood Pressure

MCAO	<i>Arteria cerebri media</i> -Okklusion
MRT	Magnetresonanztomographie
MS-DOS	Microsoft Disc Operating System
MSME	Multi Slice Multi Echo
MSSE	Multi Slice Single Echo
N <sub>2</sub>	Distickstoff
NaCl	Natriumchlorid
NIH	National Institutes of Health
nS	nicht signifikant
NADH	Nikotinamiddinucleotid
NADPH	Nikotinamiddinucleotidphosphat
N <sub>e</sub>	Anzahl der Echos einer Multiechosequenz
n.a.	nicht angegeben
NbTi	Niobium-Titanium
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
N <sub>2</sub> O	Distickstoffoxid (Lachgas)
NO	Stickstoffmonoxid
NoA	Number of Average
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O <sub>2</sub>	Disauerstoff
p	Signifikanzniveau
PDH	Pyruvat-Dehydrogenase
P <sub>i</sub>	anorganisches Phosphat
psi	Pound Per Square Inch (Druckeinheit; 1 psi = 0.0689 bar)
Pt	Platin
PTC	Positive Temperature Coefficient
p <sub>ti</sub> CO <sub>2</sub>	Gewebekohlendioxidsättigung
p <sub>ti</sub> O <sub>2</sub>	Gewebesauerstoffsättigung

RARE	Rapid Aquisition with Relaxation Enhancement
RF	Radiofrequenz
ROI	Region of Interest
SE	Spin Echo
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
SNR	Signal-zu-Rausch Verhältnis
STED	Stimulated Diffusion Weighted Imaging
T1	Longitudinale Relaxationszeit
T2	Transversale Relaxationszeit
TE	Echozeit
TFH	Technische Fachhochschule Berlin
THB	Tetrahydrobiopterin
TIFF	TAG-Image-File-Format
TM	Mixing Time
TR	Repetitionszeit
TT	Total Scan Time
UKBF	Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin

## A.2 Formelzeichen

$b_d$	Diffusionsgradientenanteil der Diffusionswichtung
$b_{eff}$	effektive Diffusionswichtung
$b_r$	Readgradientenanteil der Diffusionswichtung
$\vec{B}^x, \vec{B}^y, \vec{B}^z$	Gradientenfelder in den Raumrichtungen x, y, z
$D$	Diffusionskonstante
$D^\infty$	Diffusionskonstante bei $T \rightarrow \infty$
$D$	Geradensteigung
$E$	Energie
$E_a$	Aktivierungsenergie

$G$	Gradientenstärke
$\mathcal{E}$	Elektromotorische Kraft
$g_d$	Diffusionsgradientenstärke
$g_r$	Readgradientenstärke
$G^x, G^y, G^z$	Gradientenfeldstärken in den Raumrichtungen x, y, z
$h$	Häufigkeit
$I$	Intensität
$I$	Kernspinquantenzahl
$\vec{I}$	Kerndrehmoment bzw. Kernspin
$I_p, I_q$	Pixelintensitäten
$k$	Transferkonstante
$l$	Rotationsmoment
$m_I$	magnetische Quantenzahl
$m_f, m_t$	Feucht-, Trockengewicht
$m$	Translationsmoment
$m_i$	Masse des Atoms $i$
$M_0$	Gleichgewichtsmagnetisierung
$M_x$	Quermagnetisierung
$n$	Anzahl
$N$	Besetzungspopulation
$p$	Pixellänge
$P$	Spannung
$q$	Ladung
$Q$	Spulengüte
$r$	Strecke
$r_s$	Korrelationskoeffizient
$R$	Relaxivität
$S$	Signalintensität
$S$	Ordinatenabschnitt



$t$	Zeit
$T$	Temperatur
$U$	Umdrehung
$V$	Volumen
$V_S$	Sekundärspannung
$V_1, V_2$	Spulenspannung
$v$	Geschwindigkeit
$v_{max}$	Maximalgeschwindigkeit
$x$	horizontale Magnetausrichtung
$y$	vertikale Magnetausrichtung
$z$	Magnetlängsausrichtung
$\beta$	Readgradientendauer
$\delta$	Diffusionsgradientendauer
$\Delta$	Diffusionsgradientenabstand
$\eta$	Filling-Faktor
$\theta$	Flip-Winkel
$\vec{\mu}$	magnetisches Moment
$\nu_{\frac{1}{2}}$	Halbwertsbreite
$\nu_o$	Resonanzfrequenz einer Spule
$\pi$	Kreiszahl
$\rho$	Protonendichte
$\sigma$	Fehler
$\chi$	Suszeptibilität
$\phi(x)$	Phasenwinkel
$\psi$	Summe der Fehlerquadrate
$\tau$	Echozeit
$\omega_0$	Lamorfrequenz
$\Omega$	Readgradientenabstand

## A.3 Einheiten

A	Ampere
bar	$10^5$ Pascal
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
d	Tag
dB	Dezibel
h	Stunde
K	Kelvin
kD	Kilodalton
kg	Kilogramm
kHz	Kilohertz
l	Liter
m	Meter
min	Minute
mMol	Millimol
MByte	Megabyte
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mT	Millitesla
N	Newton
Pa	Pascal
pH	Wasserstoffionenkonzentration ( $-\log_{10}[\text{H}^+]$ )
psi	Pound Per Square Inch (Druckeinheit; 1 psi = 0.0689 bar)
s	Sekunde
T	Tesla
$\mu\text{m}$	Mikrometer
$\Omega$	Ohm

## A.4 Physikalische Konstanten

Boltzmannkonstante	$k_B$	$1.3806 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$
Euler'sche Zahl	$e$	2.71828
gyromagnetisches Verhältnis	$\gamma$	$26.752 \cdot 10^7 \text{ kg}^{-1} \text{ s A} \quad (\text{T}^{-1}\text{s}^{-1})$
Plancksches Wirkungsquantum	$h$	$6.6263 \cdot 10^{34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$

# Anhang B

## Curriculum Vitae

NAME: Stroop, Ralf  
ADRESSE: Eichenstraße 9  
33803 Steinhagen  
GEBURTSDATUM: 25. März 1967  
GEBURTSORT: Rietberg

### SCHULBILDUNG:

**1973–1977** Grundschule Rietberg.  
**1977–1986** Gymnasium Nepomucenum in Rietberg.  
Latinum, Graecum.  
Abitur 1986.

### ZIVILDIENTST:

**Juli 86–Febr 88** Zivildienst im Unfallrettungsdienst des BRK in Landshut und im Pflegedienst der Westfälischen Klinik für Neurologie, Psychiatrie und Psychosomatik in Gütersloh.

### STUDIUM:

**1988–1993** Studium der Biochemie an der Freien Universität Berlin mit Abschluß als Diplom-Biochemiker.

- 29.08.1990** Vordiplomprüfung Biochemie.
- 06.10.1993** Diplomprüfung Biochemie.
- 1993–1998** Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin und an der Humboldt–Universität zu Berlin.
- 12.03.1995** Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.
- 31.03.1997** Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.
- 13.05.1998** Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.
- 05.06.1998** Erlaubnis zur Ausübung des ärztlichen Berufes als Arzt im Praktikum.

PRAKTISCHES JAHR:

- Apr 97–Mär98** *Traumatologie, Allgemeinchirurgie und Neurochirurgie:* Prof. Haas, Prof. Neuhaus, Prof. Lanksch.  
Virchow–Klinikum der Humboldt–Universität zu Berlin.  
*Neurologie:* Prof. Schiffter.  
Krankenhaus am Urban, Akademisches Lehrkrankenhaus der Freien Universität Berlin.  
*Innere Medizin:* Prof. Londong.  
Krankenhaus am Urban, Akademisches Lehrkrankenhaus der Freien Universität Berlin.

WISSENSCHAFTLICHE AKTIVITÄTEN:

- Apr 92–Juli 92** Forschungsaufenthalt am Bijvoet Center of Biomolecular Research, der Rijksuniversiteit Utrecht, Niederlande, R. Kaptein  
*“Triple-Resonance NMR Studies of the HU Protein from B. stearothermophilus:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  Resonance Assignments of the Backbone Atoms“*
- 1993** Diplomarbeit Biochemie in der Arbeitsgruppe Prof. E. W. Knapp (Molecular Modelling) Institut für Kristallographie, Fachbereich Chemie, Freie Universität Berlin  
*“Molekulardynamik-Simulation großer Protein-Wasser-Systeme: Das Reaktionszentrum der bakteriellen Photosynthese.“*
- Okt 95–Sept 98** Doktorand und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe für experimentelle Neurochirurgie, Prof. Unterberg, Klinik für Neurochirurgie, Campus Virchow-Klinikum der Humboldt-Universität zu Berlin.
- Aug – Sept 98** Co-Lektorat des Buches: Grundlagen neurochirurgischer Intensivmedizin, J. Piek und A. Unterberg, Zuckschwerdt-Verlag, 1999.

ÄRZTLICHE TÄTIGKEIT:

- Okt 98–März 00** Forschungs-AiP-Stelle in der Klinik für Neurochirurgie der Charité, Campus Virchow-Klinikum, gewährt durch die Forschungskommission der Charité, mit Tätigkeitsschwerpunkt *“Neurochirurgische Intensivmedizin“*.
- April 00–Dez 01** Assistenzarzt in der Klinik für Neurochirurgie der Charité, Campus Virchow-Klinikum.
- seit Jan 2002** Assistenzarzt in der Klinik für Neurochirurgie der Krankenanstalten Gilead, von Bodelschwingsche Anstalten Bethel.

# Anhang C

## Publikationen

- Kroppenstedt S.N., Stroop R., Kern M., Thomale U.W., Schneider G.H. und Unterberg A.W. (1999). Lubeluzole Following Traumatic Brain Injury in the Rat. *Journal of Neurotrauma* **16(7)**:629-637
- Stroop R., Thomale U.W., Päuser S., Bernarding J., Vollmann W., Wolf K.J., Lanksch W.R., und Unterberg A.W. (1998) Magnetic Resonance Imaging Studies with Cluster Algorithm for Characterization of Brain Edema after Controlled Cortical Impact Injury (CCII). *Acta Neurochirurgica*, Suppl **71**:303-305
- Stroop R., Päuser S., Vollmann W., Bernarding J., Kiening K.L., Unterberg A. W. und Wolf K.J. (1997). Magnetresonanztomographische Charakterisierung des Hirnödems nach Controlled Cortical Impact Injury (CCII). *RöFo*, Suppl. I, **166**: S136.
- Unterberg A., Stroop R., Thomale U.W., Kiening K.L., Päuser S. und Vollmann W. (1997). Characterisation of Brain Edema Following “Controlled Cortical Impact Injury“ in Rats. in: James H.E. et al. (eds.), *Brain Edema X*, *Acta Neurochirurgica*, Suppl. **70**: 106-108

Vis H., Boelens R., Mariani M., Stroop R., Vorgias C., Wilson K. und Kaptein, R. (1994).  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{15}\text{N}$  Resonance Assignments and Secondary Structure Analysis of the HU Protein from *Bacillus subtilis* Using Two- and Three-Dimensional Double- and Triple-Resonance Heteronuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Biochemistry*, **33**: 14858-14870.



# Anhang D

## Danksagung

Die Danksagung ist immer der schwierigste Part: man darf niemanden vergessen. An folgende Personen erinnere ich mich aber ohne Mühe, da sie am Gelingen dieser Arbeit in nicht unwesentlichem Maße beteiligt waren und sei es nur durch die Schaffung einer angenehmen Arbeitsatmosphäre.

Herr Prof. Unterberg war für mehr als nur eine gute Atmosphäre zuständig. Er ermöglichte mir das Thema nach eigenen Vorstellungen frei zu bearbeiten, und war in sehr angenehmer und konstruktiver Weise behilflich, die Probleme zu beseitigen, die ohne mein Zutun nicht aufgetreten wären.

Allen Bewohnern des Kabäuschen und des Palmengartens: wen auch immer man dort gerade antraf: immer war Zeit für praktische Lebenshilfe, hilfreiche Diskussionen oder Anregungen in Phasen intellektueller Dürre.

Herrn Prof. Wolf, Abteilung für Radiologische Diagnostik, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, sowie seinen Mitarbeitern - namentlich seien hier insbesondere genannt Frau Dr. Päuser sowie Herr PD Dr. Dr. Bernarding - im Bereich der experimentellen Kernspintomographie danke ich insbesondere für die freundliche Aufnahme in ihrer Abteilung und für die ungewöhnlich großzügige Nutzung der Einrichtung.

Herrn Prof. W. Vollmann von der Technischen Fachhochschule Berlin, der in zahlreichen abendlichen und nächtlichen Stunden den Kernspintomographen am Leben erhielt, durch den Bau einer hochwertigen Spule die Bildgüte nachhaltig steigerte und mir zahlreiche physikalische Sachverhalte verständlich machen konnte: ihm sei recht herzlich gedankt!

Dann wären da noch: Mein Bruder, danken möchte ich ihm für den kurzen Draht in Sachen Programmierungs- & Software-Bugs (F1), sowie Monika Hanswillemenke. (Sie weiß, wofür.)

Gedankt auch sei allen, die Korrektur gelesen haben, und sich somit für die verbliebenen Fehler verantwortlich fühlen.

Zum Schluß, aber an aller erster Stelle, möchte ich meinen Eltern danken, die mir eine umfassende Ausbildung ermöglichten.

Wie gesagt: Danke!

# Anhang E

## Erklärung an Eides Statt

Hiermit erkläre ich, Ralf Stroop, daß die vorgelegte Promotionsarbeit mit dem Titel:

**Kernspintomographische Untersuchungen nach  
“Controlled Cortical Impact Injury“**

von mir selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde. Sie stellt keine Kopie anderer Arbeiten dar, auch nicht in Teilen. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind in ihr vollständig angegeben, es wurden keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwandt. Das beantragte Promotionsverfahren stellt das erste beantragte Promotionsverfahren dar.